MYSKOW, W.

POLSKA AKADEMIA NAUK
WYDZIAŁ NAUK ROLNICZYCH I LEŚNYCH

ROCZNIKI NAUK ROLNICZYCH

АННАЛЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
POLISH AGRICULTURAL ANNUAL

BADANIA NAD DROBNOUSTROJAMI ROZPUSZCZAJĄCYMI FOSFORANY WAPNIA

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РАСТВОРЯЮЩИХ ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ

STUDIES ON THE MICROORGANISMS DISSOLVING CALCIUM PHOSPHATES

TOM 88

Seria D — Monografie

Warszawa 1960
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO ROLNICZE i LEŚNE

144 B

POLSKA AKADEMIA NAUK
WYDZIAŁ NAUK ROLNICZYCH i LEŚNYCH

ROCZNIKI NAUK ROLNICZYCH

АННАЛЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

POLISH AGRICULTURAL ANNUAL

BADANIA NAD DROBNOUSTROJAMI ROZPUSZCZAJĄCYMI FOSFORANY WAPNIA

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РАСТВОРЯЮЩИХ ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ

STUDIES ON THE MICROORGANISMS DISSOLVING CALCIUM PHOSPHATES

TOM 88

Seria D — Monografie

Warszawa 1960

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO ROLNICZE i LEŚNE

REDAKCJA NACZELNA

Franciszek Abgarowicz, Stefan Barbacki, Mieczysław Birecki, Czesław Kanafojski, Jan Kielanowski, Anatol Listowski, Ryszard Manteuffel, Jerzy Ostromęcki, Szczepan Pieniążek, Stanisław Sakowicz, Witold Stefański, Heliodor Szwejkowski

Redaktor Naczelny — M. Birecki

Adres Redakcji Naczelnej: PAN — Wydział Nauk Rolniczych i Leśnych
Warszawa, Pałac Kultury i Nauki, 27 piętro, pokój 2719

Redaktor techniczny K. Stodolak Korekta przeprowadzona przez Redakcję

PWRiL. Zam. 2664. Nakład 800 + 80 egz. Objętość 15,2 ark. wyd., 10 ark. druk. Papier bezdrz. III kl., 80 g, 70 × 100 cm. Druk ukończono w listopadzie 1960 r. Cena zł 19.70

Zakłady Graficzne RSW „Prasa", Bydgoszcz, ul. Dworcowa 13. Zam. nr 315. K-5

ROCZNIKI NAUK ROLNICZYCH
TOM 88-D 1960

WŁ. MYŚKÓW

BADANIA NAD DROBNOUSTROJAMI ROZPUSZCZAJĄCYMI FOSFORANY WAPNIA

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РАСТВОРЯЮЩИХ ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ

STUDIES ON THE MICROORGANISMS DISSOLVING CALCIUM PHOSPHATES

Warszawa 1960
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO ROLNICZE i LEŚNE

ROCZNIKI NAUK ROLNICZYCH
TOM 88-D 1960

Władysław Myśków

BADANIA NAD DROBNOUSTROJAMI ROZPUSZCZAJĄCYMI FOSFORANY WAPNIA

Z prac Oddziału IUNG w Gorzowie Wlkp.

PRZEGLĄD LITERATURY

KRĄŻENIE FOSFORU I JEGO ZWIĄZKI WYSTĘPUJĄCE W GLEBACH

Fosfor mieści się w skorupie ziemskiej, głównie w jej powierzchniowej warstwie. Istnieje około 170 minerałów zawierających fosfor, jednakże przeważająca część tego pierwiastka, bo około 95%, występuje w postaci apatytu (Smulikowski, 1953).

W procesach wietrzenia, w których następuje rozkład apatytu i uwalnianie z niego fosforu, duże znaczenie ma — obok czynników fizycznych i chemicznych — działalność roślin i drobnoustrojów (Dietrich 1862, Sachs J. i Liebig J. wg Czapeka 1896, Kunze 1906, Stoklasa i Ernest 1908, Haselhoff 1909, Bassalik 1913 i inni).

Fosfor uruchamiany z apatytu jest pobierany przez drobnoustroje i rośliny, a następnie dostaje się za ich pośrednictwem do ciał zwierząt. Z czasem, w wyniku koncentracji fosforu w organizmach i gromadzenia się ich szczątków, powstają złoża fosforanów wapnia, zwane ogólnie fosforytami. Skład fosforytów zależy od wieku i środowiska, w jakim powstają, przy czym im są starsze, tym bardziej zbliżają się do apatytu (Lityński 1946).

W glebach fosfor znajduje się pod postacią mineralnych i organicznych związków.

Wolny kwas fosforowy, powstający pod wpływem rozpuszczania trudno przyswajalnych fosforanów, oraz wskutek mineralizowania organicznych związków nie utrzymuje się w glebie w tej postaci. W środowisku obojętnym lub słabo alkalicznym fosforany ulegają wytrącaniu — niezależnie od możliwości pobierania ich przez rośliny i drobnoustroje — głównie w postaci fosforanów wapnia typu apatytowego, w środowisku zakwaszonym w postaci fosforanów żelazowych i glinowych (Askinazi 1949), Sokołow 1950, Musierowicz 1955, Scheffer 1955).

Aniony kwasu fosforowego mogą być także absorbowane przez próchnicę glebową, tworząc z niektórymi jej frakcjami związki kompleksowe organiczno-mineralne (Kononowa 1951, Musierowicz 1955, Misterski 1957, Mister-

ski i Łoginow 1958). Prócz tego możliwa jest sorpcja fizyczna kwasu fosforowego przez minerały ilaste, oraz przez sorpcyjny kompleks glebowy.

Źródłem fosforu organicznego w glebach są nukleoproteidy, fityny, lecytyny, zawarte w resztkach roślinnych, zwierzęcych, w próchnicy i w komórkach drobnoustrojów.

Zawartość fosforu ogólnego w warstwie ornej gleb oblicza się na 0,01—0,2% P_2O_5 (Prianisznikow 1952). W torfach może ona dochodzić nawet do 0,5% (Musierowicz 1955). Ilość fosforu mineralnego wynosi w większości zbadanych gleb na świecie 55—93% ogólnej ilości fosforu (Chejfec 1948, Dean 1949, Chinow 1956, Karin i Khan 1956). Wyjątek stanowią niektóre czarnoziemy i torfy, w których mogą przeważać organiczne związki fosforu (Musierowicz 1955).

Największe ilości związków fosforowych, szczególnie organicznych, znajdują się w wierzchnich warstwach gleb (Chejfec — wg Sokołowa 1950). Niektóre jednak gleby bielicowe mogą zawierać wg badań Musierowicza (1951) więcej fosforu w poziomach wmywania (iluwialnych) niż w warstwach górnych.

* * *

W ustawicznych przemianach związków fosforowych w glebie, które przebiegają równocześnie w dwóch przeciwnych kierunkach: apatyt ⇄ kwas fosforowy, doniosłą rolę odgrywają drobnoustroje. Można by zgodzić się z poglądem Kudrina (1952), że bez działalności drobnoustrojów, po wyczerpaniu się zapasów przyswajalnego fosforu, nastąpiłaby stagnacja w krążeniu tego pierwiastka. Określenie dynamiki przemian związków fosforowych w glebie jest problemem przede wszystkim mikrobiologicznym. Najważniejszymi z tych procesów są: 1) rozpuszczanie mineralnych związków fosforu, 2) mineralizacja organicznych związków fosforu, 3) asymilacja fosforu przez komórki drobnoustrojów.

DROBNOUSTROJE GLEBOWE I MECHANIZM ROZPUSZCZANIA PRZEZ NIE MINERALNYCH ZWIĄZKÓW FOSFORU

Jak już podkreśliliśmy, w procesach uruchamiania fosforu z mineralnych jego związków udział biorą drobnoustroje i rośliny. To działanie roślin i drobnoustrojów nie zostało jeszcze całkowicie wyjaśnione.

Zagadnienie rozpuszczania mineralnych związków fosforu pod wpływem drobnoustrojów traktowane było dotychczas głównie z punktu widzenia bądź to chemii, bądź też praktyki rolniczej. W badaniach tych zwracano uwagę w pierwszym rzędzie na sam proces uruchamiania trudno przyswajalnych fosforanów, mało wnikając w biologię organizmów, które go wywołują.

Głównym czynnikiem powodującym hydrolizę związków fosforowych w glebie — w świetle wyników dawniejszych i nowszych badań — są

kwasy wytwarzane przez drobnoustroje. Liczni badacze zwracają uwagę na kwasy organiczne, powstające w wyniku fermentowania węglowodanów (Koch i Kröber 1906, Kröber 1909, Perotti 1909, Stoklasa 1911, Pikowska 1948, Gerretsen 1948, Kreybig 1953). Duże znaczenie w tych procesach przypisuje się kwasowi węglowemu (Kröber 1909, Stoklasa 1911). Sewerin (1910, 1912) nie stwierdził jednak w hodowlach na sterylizowanych podłożach glebowych, z dodatkiem fosforanów wapnia, szczepionych wyciągiem glebowym, dodatniego działania drobnoustrojów na uruchamianie fosforu, mimo wielokrotnego (około 10—20 razy) przyrostu ilości wydzielanego dwutlenku węgla w kombinacjach zakażonych, w porównaniu z kontrolnymi (gleba sterylna, niezakażona). Bassalik na podstawie swoich badań (1912, 1913) dochodzi do wniosku, że dwutlenek węgla działa na trudno przyswajalne fosforany słabiej, niż kwasy organiczne. Według danych tego autora *Clostridium pasteurianum* wytwarzające kwas masłowy rozpuszczało w hodowlach płynnych z glikozą i apatytem około 5 razy więcej apatytu, niż *Bac. extorquens,* który wyróżniał się zdolnością do produkowania dużych ilości dwutlenku węgla.

Szereg badaczy wskazuje na ważny wpływ bakterii autotroficznych: nitryfikatorów i bakterii siarkowych na rozpuszczanie fosforanów wapnia (Muntz, wg Bassalika 1912, Lipman i współpracownicy 1916, Waksman 1927, Kreybig 1930). Bakterie te, produkując silne rozpuszczalniki w postaci kwasu azotowego lub siarkowego, wpływają na rozpuszczanie fosforanów wapniowych. Muntz (wg Bassalika 1912) wyraża pogląd, że nitryfikatory, jako autotrofy o bardzo małych wymiarach i dzięki temu uzdolnione do wnikania w najdrobniejsze szczeliny, są pionierami w rozkładaniu skał macierzystych, a więc także pierwotnych minerałów apatytowych. Można przypuszczać, że i bakterie siarkowe odgrywają pionierską rolę w rozkładzie skał macierzystych. Lipman bowiem i współpracownicy (wg Waksmana 1927) znaleźli ścisłą współzależność między ilością kwasu siarkowego wytwarzanego przez bakterie siarkowe, a ilością fosforu uwalnianego z fosforytu, w czasie jego kompostowania w glebie z dodatkiem siarki.

Doniosłą rolę w rozpuszczaniu fosforanów wapniowych spełniają prawdopodobnie grzyby, choć na ten temat mamy bardzo skąpe wiadomości. Kunze (1906) obserwował w doświadczeniu z apatytem i z innymi minerałami, obłożonymi leśną próchnicą, po trzech tygodniach hodowli, delikatne wyżłobienia ich powierzchni, wywołane rozwojem grzybów niższych.

Waksman (1927) uważa, że niektóre grzyby mogą bezpośrednio asymilować fosfor z trójwapniowego fosforanu. Według tego autora *Aspergillus niger, Penicillium brevicaule* i *Penicillium glaucum* asymilują z pożywki płynnej w ciągu 60 dni około $^1/_5$—$^1/_3$ fosforu z fosforanu trójwapniowego. Fosfor wraca do roztworu w formie przyswajalnej dopiero po rozkładzie grzybni.

Feher (1935) znalazł w glebach strefy tropikalnej dodatnią korelację

między ogólną ilością bakterii i grzybów, a ilością związków fosforowych rozpuszczalnych w kwasie cytrynowym.

Ziemięcka (1929 c), badając zdolność azotobaktera do wykorzystywania fosforu z fosforanów o różnej rozpuszczalności, stwierdziła, że organizm ten pobiera 5—6% fosforu z fosforanu trójwapniowego, natomiast nie korzysta z fosforytu rachowskiego. W podobnych badaniach Stoklasa (1924) znalazł bardzo dużą zdolność azotobaktera do korzystania z fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów, nawet z apatytu. Wyniki te jednak nie zgadzają się z żadnymi ze znanych nam danych innych autorów. Według Thompsona i współpracowników (1931) azotobakter asymiluje z trudno przyswajalnych fosforanów w ciągu 45 dni więcej fosforu, niż go uruchamia. Po tym czasie proces uruchamiania fosforu przeważa u tego organizmu nad procesem asymilacji. Czy uruchamianie fosforu z fosforanów wapnia przez azotobaktera zachodziłoby w wyniku oddziaływania na te związki kwasów, wytwarzanych przez ten organizm, czy też w jakiś inny sposób, nie wiadomo.

Trzeba tu przypomnieć, że kwasy wytwarzane przez drobnoustroje powodują nie tylko rozpuszczanie fosforanów wapniowych w glebie, ale także innych związków i minerałów. Mogą one uwalniać z nich różne kationy i aniony jak: Ca, K, SiO_4, SiO_2 i inne, które wg danych licznych autorów mogą w dalszym ciągu wpływać na uruchamianie fosforu z mineralnych jego połączeń. Na korzystne działanie kwasu krzemowego, na uwalnianie fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów, zwracają uwagę m. in. Jessen i Lesch (1930), Kappen (1935), Bastisse (1950), Gericke (1949), Swenson, Cole i Sieling (1949). Ziemięcka (1929 a) stwierdziła dodatni wpływ żelu krzemionkowego na pobieranie anionów fosforowych przez azotobaktera. W doświadczeniach Köttgena i Junga (1941) dawki Ca i w jeszcze większym stopniu połączone dawki Ca i K doprowadziły do wyraźnego przyrostu ilości przyswajalnego fosforu w badanej glebie.

Aereboe i Wrangell (wg Lemmermanna 1922) uważają, że mineralne związki fosforu mogą być uruchamiane przez stosowanie odpowiednich dawek nawozów azotowych i potasowych. W związku z tym w swoim systemie nawożenia zalecają oni stosowanie tylko tych dwóch rodzajów nawozów. Dodatnie działanie nawozów azotowych, fizjologicznie kwaśnych stwierdził Prianisznikow (1905), wyjaśniając ten proces nie bezpośrednim wpływem kationów NH_4 na trudno przyswajalne fosforany, lecz zakwaszaniem środowiska. Perotti jednak (1909) jak i Ungerer (1927) znaleźli, że sole amonowe (chlorki, siarczany, azotany) mogą bezpośrednio oddziaływać na uwalnianie fosforu z fosforanów wapniowych. W świetle tych badań bardziej zrozumiały staje się korzystny wpływ amonifikatorów na uruchamianie fosforanów wapniowych, na co zwrócił uwagę m. in. Sackett i współpracownicy (1908) oraz Stoklasa (1900). Badacze ci podają, że pospolite amonifikatory jak: *Bac. proteus, Bac. mycoides, Bac. megatherium* mogą uwalniać fosfor z mączki kostnej. Charakterystyczne jest, że w doświad-

czeniach tych autorów proces uruchamiania fosforu z mączki kostnej zachodzi w pożywkach bez dodatku cukru jako źródła węgla, a więc nie ulegających zakwaszeniu. Amonifikatory oddziaływały prawdopodobnie na te fosforany z pomocą wytwarzanego amoniaku. Działanie to polegało — być może — na reakcji wymiennej między fosforanami wapnia, a kationami NH_4, jak to tłumaczy Bassalik (1912), albo też na innych pośrednich reakcjach przy współudziale tego kationu.

W ostatnich latach nieco bliżej wyjaśniono mechanizm rozpuszczania mineralnych związków fosforu przez drobnoustroje w tych wypadkach, kiedy nie zachodzi bezpośrednie działanie jónów wodorowych na te związki. Najwięcej prac w tym kierunku przeprowadzono z fosforanami glinu i żelaza. Wykazano, że różne organiczne związki, produkty życiowej działalności drobnoustrojów, mogą tworzyć — każdy przy odpowiednim pH środowiska — trwalsze połączenia z Ca, Fe i Al, niż fosforany (Swenson i współpracownicy 1949, Struthers i Sieling 1950, Dalton 1952, Bradley i Sieling 1953, Sierdobolski — wg Muromcewa 1957). Bradley i Sieling (1953), którzy badali stopień oddziaływania różnych związków organicznych na fosforany żelaza i glinu, przedstawiają schemat przebiegu reakcji między tymi związkami w ten sposób:

$$Fe\begin{matrix}OH\\OH\\H_2PO_4\end{matrix} + \text{związek organiczny} \rightleftharpoons Fe\begin{matrix}OH\\OH\\\text{zw. org.}\end{matrix} + H_3PO_4$$

W wyniku więc reakcji wymiennych między związkami organicznymi, a trudno przyswajalnymi fosforanami będą się gromadzić w podłożu obok związków kompleksowych organiczno-mineralnych pewne ilości kwasu fosforowego.

Substancjami organicznymi podatnymi do tych reakcji okazały się m. in. kwasy organiczne oraz niektóre cukry. Działanie tych związków na fosforany żelaza było silniejsze, niż na fosforany glinu. Najsilniejsze działanie przejawiały grupy karboksylowe kwasów: cytrynowego, szczawiowego, winowego — a także askorbinowego i galakturonowego, a więc tych kwasów, które powstają w glebie pod wpływem drobnoustrojów. Bradley i Sieling (1953) przypisują hydrolizie substancji pektynowych — podczas której tworzą się kwas galakturonowy, galaktoza i arabinoza — duże znaczenie przy uwalnianiu fosforu z fosforanów żelaza i glinu.

Te same aniony, głównie kwasów dwu- i trójkarboksylowych — jak podaje Sierdobolski (wg Muromcewa 1957 a) — uwalniają fosfor z fosforanów wapnia. Badacz ten stwierdził uruchamianie fosforu z fosforanu trójwapniowego w roztworach soli sodowych kwasu winowego i cytrynowego, przy czym intensywność tego procesu wzrastała w miarę zwiększania się wartości pH. W roztworze szczawianu sodu uwalnianie fosforu z fosforanu dwuwapniowego zachodziło wg danych Sierdobolskiego nawet przy pH 8,5.

Grazia de S. (1911) i Kreybig (1953) wyrażają pogląd, że rozpuszczanie trudno przyswajalnych fosforanów wapniowych jest także możliwe pod

wpływem egzoenzymów, wydzielanych przez drobnoustroje. Hipoteza ta jednak po bliższym jej rozpatrzeniu nie znajduje uzasadnienia. W glebie bowiem trudno przyswajalne fosforany występują, jak już zaznaczyliśmy poprzednio, głównie pod postacią apatytu, którego drobiny tworzą kryształy o skomplikowanej budowie (Tschermak 1900, Rathje 1939, 1941, Kilian i Szczepanik 1955). Istnienie enzymów, obdarzonych tak dużą energią by mogły bezpośrednio przerywać silne wiązania $Ca\text{-}PO_4$ w siatkach kryształów apatytu, jest mało prawdopodobne. Inaczej bowiem rozkład tych związków zachodziłby w glebach intensywnie, gdy tymczasem przebiega on tam powoli.

Nie wydaje się jednak, aby struktura apatytu była w warunkach biologicznych, w których nie działają kwasy, czymś nienaruszalnym. Mineralny składnik kości jest bardzo zbliżony budową do apatytu, a mimo to ulega w żywym ustroju ustawicznej wymianie z wolnymi jonami wapnia i kwasu fosforowego, o czym świadczą doświadczenia przeprowadzone in vivo przy użyciu izotopowego fosforanu i wapnia [1]. Być może, że taka lub też innego rodzaju wymiana jonowa jest możliwa między komórkami drobnoustrojów, a drobinami apatytu i na tym mogłoby polegać ich bezpośrednie oddziaływanie na fosforany wapniowe.

Mechanizm uruchamiania przez drobnoustroje fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów może być różny, gdyż zależny od ich właściwości fizjologicznych i od warunków środowiska, w jakim działają. Należy jednak dodać, że drobnoustroje mogą współdziałać nie tylko w uwalnianiu fosforu z tych związków, ale i w tworzeniu nowych mineralnych jego połączeń.

Zdaniem Wiernadskiego (1940) w glebach występują mało zbadane połączenia fosforowo krzemianiowe, powstające w wyniku działalności drobnoustrojów. Czystiakowa i Kamniewa (1952) uważają, że pod wpływem psychrofilnych bakterii tworzą się w glebie w chłodnych porach roku kryształy fosforanu amonowo-magnezowego, które mogą być źródłem składników pokarmowych dla roślin i drobnoustrojów w okresie letnim.

1. Rozpuszczanie fosforanów wapnia pod wpływem drobnoustrojów rizosfery

Zróżnicowanie roślin pod względem ich uzdolnienia do pobierania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów może się wiązać z wydzielaniem kwasów przez korzenie roślin, z aktywnością enzymatyczną korzeni lub wreszcie z działalnością drobnoustrojów bytujących w strefie korzeniowej roślin.

Dawniejsze badania z tego zakresu prowadzono głównie nad wpływem, jak wtedy sądzono, wydzielin korzeni roślin na rozkład minerałów glebotwórczych, a także mineralnych związków fosforu. W nowszych pracach

[1] Na podstawie listu prof. B. Skarżyńskiego, z dnia 22. III. 58.

nad tym zagadnieniem (od 1948 r.) usiłowano obok tego poznać wpływ drobnoustrojów korzeniowych na uruchamianie fosforu z fosforanów wapniowych.

Trzeba ogólnie zaznaczyć, że przy badaniu, jaka jest rola systemu korzeniowego roślin przy uruchamianiu składników pokarmowych, a jaka drobnoustrojów przykorzeniowych — o ile w ogóle można te zagadnienia rozpatrywać oddzielnie — napotykano i w dalszym ciągu jeszcze napotyka się na poważne trudności metodyczne.

Nie udało się bowiem dotychczas w naturalnych warunkach definitywnie ustalić, które kwasy i enzymy znajdowane w rizosferze roślin są wydzielane przez rośliny, a które z nich wytwarzają drobnoustroje przykorzeniowe. Stąd zależnie od stosowanej metodyki badań jedni autorzy dochodzą do wniosku, że działają tu głównie korzenie roślin, inni natomiast sądzą, że ważniejszymi czynnikami są drobnoustroje przykorzeniowe.

Liebieg (1858) i Sachs (1860) [1] stwierdzili korozję płytek marmurowych i wapiennych pod wpływem korzeni roślin, nie zajmowali się jednak bliżej naturą tego zagadnienia.

Dietrich (1864, wg Prianisznikowa 1934) stwierdził, że groch, gryka, a zwłaszcza łubin pobierały z podłoża bazaltowego większe ilości składników mineralnych, niż zboża.

Dyer (1894, wg Prianisznikowa 1934), usiłując zbadać przyczyny różnic w zdolności pobierania składników pokarmowych przez korzenie różnych roślin, określał ilość kwasów w korzeniach. Według tego autora sok komórkowy korzeni zbóż zawierał tylko 0,38—0,65% kwasów, natomiast sok komórkowy korzeni roślin motylkowych — 1,11—1,55%.

Czapek (1896, 1905) doszedł do wniosku, że korzenie roślin wydzielają głównie dwutlenek węgla, który jego zdaniem decyduje o ich zdolności do rozpuszczania minerałów glebowych.

Kunze (1906) porównał stopień korozji minerałów, wywołanej jego zdaniem przez wydzielanie kwasów z korzeni roślin, z korozją tych minerałów powstałą na skutek oddziaływania na nie grzybów: *Penicillium glaucum, Mucor mucedo, Mucor stolonifer*. W związku z tym wysuwa przypuszczenie, że grzyby energiczniej rozpuszczają minerały niż rośliny. Autor ten przypisuje duże znaczenie symbiozie roślin z grzybami mykoryzowymi uważając, że dzięki temu roślina korzysta ze składników pokarmowych rozpuszczanych przez symbionta grzybowego.

Lemmermann (1907, wg Prianisznikowa 1934) dzieli rośliny, na podstawie stopnia kwasowości wyciągów z ich korzeni, na grupy aktywne i bierne. Do roślin aktywnych zalicza łubin, groch, gorczycę, do biernych pszenicę, żyto, jęczmień.

Stoklasa (1908, 1934) wyrażał pogląd, że korzenie roślin wydzielają w procesie oddychania przy dostępie tlenu dwutlenek węgla, a kwasy orga-

[1] Według Czapeka 1896 r.

niczne mogą wytwarzać i wydzielać wtedy, gdy proces ich oddychania zachodzi przy braku tlenu. Badacz ten uzależnia stopień uzdolnienia roślin do pobierania składników pokarmowych z mineralnych związków od ilości dwutlenku węgla wydzielanego przez korzenie tych roślin. Znalezione przez Stoklasę ilości dwutlenku węgla wydzielanego przez niektóre rośliny uprawne przedstawiały się następująco, w mg CO_2 na 1 g s. m. korzeni w ciągu 24 godz.: — jęczmień — 70,5, pszenica — 74,64, żyto — 110,8, owies — 118,9, łubin — 209,0.

Aberson (1910), badając odczyn rizosfery różnych roślin, znalazł najsilniejsze zakwaszenie w strefie przykorzeniowej łubinu. Zdaniem tego autora mechanizm rozpuszczania minerałów przez rośliny polega na tym, że wydzielający się z korzeni roślin dwutlenek węgla nasyca śluzowatą otoczkę [1] włośników, umożliwiając im dzięki temu rozpuszczanie trudno przyswajalnych składników pokarmowych.

Bassalik (1913) zwraca uwagę na to, że zdolność roślin do pobierania składników pokarmowych z trudno przyswajalnych związków może być także uzależniona od kontaktu ich korzeni z glebą. Większą aktywność pod tym względem roślin motylkowych tłumaczy ściślejszym kontaktem silnego systemu korzeniowego tych roślin z cząstkami gleby. Sądzi on, że drobnoustroje przykorzeniowe, jako mające o wiele większe niż korzenie powierzchnię zbiorową stykającą się z cząstkami gleby, silniej uruchamiają składniki pokarmowe.

Prianisznikow (1934) udowodnił, że łubin jest bardziej uzdolniony od innych roślin uprawnych do pobierania fosforu z fosforytu. Zdolność korzeni łubinu do rozpuszczania fosforytu przypisuje kwaśnemu odczynowi strefy przykorzeniowej tej rośliny. Zdolność tę, choć w mniejszym stopniu niż łubin, mają także według tego badacza groch, gorczyca i gryka, w najsłabszym stopniu wykazują ją rośliny zbożowe.

Według Czirikowa (za Sokołowem 1950) wykorzystanie fosforu przez rośliny zależy od zapotrzebowania roślin na wapń. Zdaniem tego badacza rośliny motylkowe łatwiej niż zbożowe dają sobie radę z mączką fosforytową, bo mają większe wymagania co do wapnia.

Fred i Haas (wg Kreybiga 1930) wykazali w doświadczeniu wazonowym, że drobnoustroje „korzeniowe" wywierają silniejszy wpływ na rozpuszczanie płytek marmurowych, niż wydzieliny korzeni roślin. Wyżłobienia w płytach marmurowych były w serii prowadzonej w warunkach naturalnych silniejsze, niż wyżłobienia w wazonach z serii sterylnej hodowli roślin.

Duże znaczenie dla poznania, jak dalece mogą drobnoustroje udostępniać roślinom składniki pokarmowe, mają badania nad mikroflorą korzeniową

[1] Prawdopodobnie chodziło tu o uwodnioną w wysokim stopniu błonę komórkową włośników.

roślin (Starkey 1931, Lochhead 1940, 1947, Krasilnikow 1952, Bieriozowa 1950, 1951 — i inni). W badaniach tych usiłowano poznać nie tylko wpływ roślin na kształtowanie się zespołów różnych grup drobnoustrojów, ale także odwrotnie — wpływ mikroflory korzeniowej na rozwój roślin.

Do zakresu tych prac można zaliczyć badania Gerretsena (1948), który usiłował poznać wpływ drobnoustrojów glebowych, a w szczególności bytujących w rizosferze roślin, na rozpuszczanie fosforanów wapniowych. Autor ten przeprowadził wiele doświadczeń, początkowo metodą Neubauera, a następnie w wazonach z różnymi roślinami na wyjałowionym piasku lub glinie. Podłoża te szczepił ziemią ogrodową, wprowadzając do nich w ten sposób naturalne populacje drobnoustrojów. Fosfor w tych doświadczeniach był dawany w postaci słabo przyswajalnych fosforanów wapniowych lub fosforytów. Przyrost plonu roślin w wazonach zakażonych wynosił niekiedy 100% w porównaniu z plonem roślin niezakażonych. Szczepienie wpływało przy tym na wyraźne zwiększenie ilości fosforu w plonie roślin.

Gerretsen zwrócił uwagę na to, że uruchamianie fosforanów wapnia przebiega intensywniej w rizosferze roślin, niż w glebie poza zasięgiem korzeni. Swoje spostrzeżenia poparł doświadczeniami polegającymi na bezpośrednim oznaczaniu nasilenia rozpuszczania fosforanów przez drobnoustroje rizosfery. Doświadczenia te prowadził z owsem i rzepą (*Brassica rapa*) na piasku sterylizowanym lub zakażonym ziemią ogrodową, do którego wkładał tafelki szklane pokryte cienką warstwą agaru z trójwapniowym fosforanem. Korzenie rozwijające się w bliskości tych szkiełek rozpuszczały lub powodowały wytrącanie się fosforanu trójwapniowego. Strefy rozpuszczania wystąpiły wyłącznie w hodowlach zakażonych. Przy korzeniach owsa strefy te zaznaczyły się słabo, natomiast przy korzeniach rzepy wystąpiły wyraźnie.

W ten sposób Gerretsen udowodnił, że drobnoustroje — rozwijające się w strefie przykorzeniowej roślin — biorą udział przy rozpuszczaniu trudno przyswajalnych fosforanów. W badaniach swoich nie określił on jednak bliżej tych drobnoustrojów. Sądząc, że drobnoustroje rozpuszczające fosforany są w glebie bardzo pospolite, nie zajmował się wpływem w uprawie polowej szczepienia roślin tymi drobnoustrojami na pobieranie przez nie fosforu.

2. Badania nad sposobami biologicznego uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów

W ciągu ostatnich lat przeprowadzono niewiele badań, których celem było stwierdzenie, czy drobnoustroje mogą powiększać ilość rozpuszczalnych połączeń fosforu w glebie w wyniku rozpuszczania fosforanów wapnia.

Stosowano przy tym szczepy energicznie rozpuszczające te połączenia. Doświadczenia obejmowały wpływ tych szczepionek na pobieranie fosforu przez rośliny lub też działanie ich na kompostowane fosforyty. W badaniach tych niektórzy autorzy (m. in. Kreybig 1953, 1954) zwracają uwagę na mikroflorę rodzimą, starając się poznać warunki, w których przyczynia się ona najwydatniej do uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów wapniowych.

a) Stosowanie szczepionek bakterii rozpuszczających fosforany wapnia

Już kilkadziesiąt lat temu Stoklasa (1900) stosował szczepionki bakterii „fosforowych". W doświadczeniu wazonowym z owsem, badał on wpływ szczepienia gleby różnymi bakteriami amonifikującymi na udostępnienie roślinom fosforu z mączki kostnej. Autor ten podaje, że te szczepy, które w pożywkach syntetycznych silnie rozkładały mączkę kostną, spowodowały także silny przyrost plonu owsa. Zwyżka plonu roślin przy szczepieniu ich *Bac. megatherium* i równoczesnym zastosowaniu ksylozy miała wynosić blisko 100%, w porównaniu z plonem roślin nieszczepionych. Natomiast pod wpływem szczepienia *Bac. liquefaciens* nastąpił spadek plonu owsa, co autor tłumaczy redukcją azotanów wywoływaną przez ten szczep.

Pikowska (1948) wyodrębniła z dwóch rodzajów mączki fosforytowej i z niektórych gleb kilka szczepów bakterii, rozpuszczających fosforany wapniowe. Pod względem morfologicznym szczepy te przedstawiały się jako krótkie nie zarodnikujące pałeczki, odznaczające się dużą zmiennością postaci. Wewnątrz ich komórek widoczna była ziarnistość. Na pożywce agarowej tworzyły śluzowate kolonie, ulegające brązowieniu w starszych hodowlach. Na pożywkach sztucznych bakterie te znacznie silniej rozpuszczały fosforany wapnia, niż pospolite drobnoustroje glebowe: *Azotobacter, Clostridium pasteurianum, Bacillus mycoides* i bakterie nitryfikacyjne.

Wyodrębnione szczepy zastosowano jako szczepionki w dwumiesięcznym doświadczeniu wazonowym z owsem, zakażając nimi glebę przed wysiewem nasion. Dla porównania glebę zakażano również azotobakterem i nitryfikatorami. Nawóz fosforowy użyto w postaci mączki fosforytowej. Przyrost plonów pod wpływem szczepienia przedstawiał się następująco: azotobakter 47—141%, nitryfikatory 48—130%, bakterie „fosforowe" 106—1550%. Wyodrębnione drobnoustroje wykazały więc dużo silniejsze działanie niż azotobakter i nitryfikatory, choć i te bakterie działały tu bardzo wyraźnie. Wyniki te jednak nie zgadzają się z żadnymi ze znanych nam danych innych autorów.

Uarowa (1956) wśród wyodrębnionych bakterii rozpuszczających fosforany wapnia wyróżniła następujące gatunki: *Micrococcus radiatus, Chromobacter aurantiacum, Pseudomonas radiobacter*. Autorka ta podaje, że

wymienione drobnoustroje, użyte jako szczepionki w doświadczeniu wazonowym z prosem i pszenicą, wpłynęły dodatnio na ich plon.

Badania nad drobnoustrojami rozpuszczającymi fosforany wapnia prowadzili również Kuryłowicz i Kermenowa (1957). Szczepy rozpuszczające fosforany wapnia wyodrębniono z gleby darniowej i kompostowej. Dwa najaktywniejsze spośród nich zastosowano jako szczepionki w doświadczeniach wazonowych, dla zbadania ich wpływu na udostępnienie fosforu roślinom, przy czym działalność tych drobnoustrojów porównywano z działalnością *Azotobactera, Clostridium pasteurianum* i nitryfikatorów. Pierwsze doświadczenie przeprowadzono z owsem na piasku i glebie bielicowej. Jako nawóz fosforowy stosowano mączkę fosforytową. Do wazonów z piaskiem w czasie wegetacji dodawano roztwór glukozy, jako źródło węgla dla bakterii (z wyjątkiem serii z nitryfikatorami). W doświadczeniu założonym na piasku nie stwierdzono wpływu wprowadzonych do gleby bakterii na udostępnienie roślinom fosforu. Na glebie bielicowej zanotowano nieduży przyrost plonu roślin na korzyść kombinacji szczepionych bakteriami „fosforowymi". Dalsze doświadczenia wazonowe przeprowadzono na glebie bielicowej z lnem, fasolą i koniczyną. Fosfor dawano w postaci mączki fosforytowej, termofosfatu, a dla kontroli — w postaci superfosfatu i supertomasyny. I w tych doświadczeniach nie zaznaczył się wyraźniej wpływ wprowadzonych bakterii na pobieranie fosforu przez rośliny z trudno przyswajalnych związków.

Leszlo i Pop (1957) wyodrębnili szczepy uwalniające fosfor z fosforanów wapnia. Szczepy te były na ogół podobne pod względem cech fizjologicznych do gatunku *Bac. megatherium*. Wstępne doświadczenia wazonowe ze szczepieniem tymi bakteriami, przeprowadzone z żytem i grochem [1], przy użyciu apatytu i superfosfatu jako źródła fosforu, wykazały dodatnie działanie na plon roślin zarówno *Bac. megatherium*, jak i bliżej nie określonego szczepu o symbolu B-2.

Sprawdzenie celowości stosowania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia jako szczepionek, wymagałoby jeszcze dalszych doświadczeń. Wydaje się jednak, że w warunkach naturalnych, w których oddziaływują na środowisko różne czynniki fizyko-chemiczne i biologiczne, stosowanie tych szczepionek może okazać się zbędne.

b) Kompostowanie fosforytów

Lipman i Waksman (wg Ziemięckiej 1948), wykorzystując właściwości bakterii siarkowych, opracowali biologiczną metodę otrzymywania rozpuszczalnych połączeń kwasu fosforowego. Metoda ta polega na kompostowaniu fosforytów z siarką i glebą, przy czym mieszanina szczepiona

[1] Leszlo nie podaje, na jakiej glebie założono to doświadczenie.

jest bakteriami siarkowymi. Kwas siarkowy wytworzony przez bakterie siarkowe, w wyniku utlenienia przez nie siarki, działa rozpuszczająco na fosforyty.

Wielu badaczy przeprowadzało próby kompostowania fosforytów z substancją organiczną, wychodząc z założenia, że w takim środowisku może się silniej ujawnić korzystny wpływ drobnoustrojów na uruchamianie fosforu z tych minerałów.

Między innymi z badań nad uruchamianiem fosforu z fosforytów w kompostach torfowych, które są biologicznie stosunkowo mało aktywne, wynika, że przebieg tego procesu zależy w pierwszym rzędzie od właściwości użytego torfu. Według Musierowicza (1928), torfy wysokie silnie kwaśne mogą uwalniać przy kompostowaniu z mączkami fosforytowymi pewne ilości fosforu z tych minerałów, natomiast torfy niskie o odczynie słabo kwaśnym nie wykazują tu korzystnego wpływu.

Hausmann (1939) przeprowadził doświadczenia nad wpływem różnych związków organicznych (lignina, węgiel brunatny, obornik) na przeprowadzenie fosforu w formy przyswajalne. Fosforyt, kompostowany z substancją organiczną przez 5 miesięcy i zastosowany następnie jako nawóz w doświadczeniu wazonowym z owsem, dał istotny przyrost plonu tej rośliny w porównaniu z kombinacją kontrolną.

Balla i Sarkadi (1952) oraz Kreybig (1953, 1954) kompostowali obornik z dodatkiem kilku odmian fosforytów, otrzymując w wyniku tego nawóz bogaty w przyswajalny fosfor. Fosforyty poddane takiej przeróbce biologicznej wykazały dodatnie działanie na plon roślin uprawnych (Kreybig 1953). Prócz tego Kreybig prowadził badania nad kompostowaniem obornika z superfosfatem (1954). W kompostach tych fosfor mineralny przechodził, zdaniem tego badacza, w związki organiczne. Kreybig uważa, że nawóz fosforowy wprowadzony do gleby w tej postaci zapobiega niekorzystnemu uwstecznianiu się chemicznemu fosforu i zapewnia roślinom bardziej równomierne otrzymywanie tego składnika.

Ozjelina (1956) badała stopień uruchamiania fosforu z fosforytów w kompostach torfowo-obornikowych z dodatkiem 1 lub 5% wapnia. W warunkach wegetacyjnych lepsze okazały się, jak podaje Ozjelina, komposty z dodatkiem 1% wapnia.

Badania nad wpływem szczepienia bakteriami „fosforowymi" na rozpuszczanie fosforytów w kompostach torfowo-obornikowych po raz pierwszy przeprowadziła Bieriozowa i współprac. (1956). Stosunek ilościowy materiałów użytych do kompostowania przedstawiał się następująco: torf (niski lub przejściowy) — 64—66%, obornik — 25%, kreda — 1,3% i mączka fosforytowa — 2,5—5%. Jako szczepionki użyto drobnoustrojów silnie rozpuszczających fosforany wapnia, wyodrębnionych także z kompostów. Przyrost przyswajalnego fosforu wzrósł w kompostach pod wpływem szcze-

pienia o 28—37% (Uarowa 1956) [1]. Takie komposty szczepione zastosowano w doświadczeniach wazonowych i polowych, uzyskując plon roślin o 12—22% wyższy, niż przy użyciu kompostów nieszczepionych.

c) Przygotowanie granulatów fosforytowych z dodatkiem substancji organicznej

Drugim — obok kompostowania — biologicznym sposobem, przy pomocy którego usiłuje się udostępnić roślinom fosfor z fosforytu, jest metoda wyrobu nawozów granulowanych z fosforytu i substancji organicznej. Substancja organiczna ma być z jednej strony źródłem składników pokarmowych dla rozwoju drobnoustrojów, z drugiej strony — substratem, z pomocą którego działałyby one na uruchamianie fosforu z tych minerałów.

Samojłow (1952) stosował granulaty z fosforytu z dodatkiem obornika lub torfu niskiego. Nawozy te wprowadzone do gleby w doświadczeniu wegetacyjnym spowodowały przyrost plonu pszenicy jarej, w porównaniu z plonem z nienawożonych wazonów.

Kreybig (1953) przygotował granulaty z fosforytu, melasy i nawozu organicznego, które nazwał „Biophosphat". Dodatek melasy, ulegającej łatwo zakwaszeniu pod wpływem naturalnych zespołów mikroflory, zwiększył stopień rozpuszczania fosforytów. W przeprowadzonym doświadczeniu wazonowym z gorczycą białą plon na „Biophosphacie" był lepszy niż na superfosfacie. W doświadczeniach polowych działanie tego nawozu dorównywało często działaniu superfosfatu.

W ZSRR, poszukując sposobów zwiększenia efektywności działania superfosfatu, przeprowadzono badania nad przygotowaniem i stosowaniem superfosfatu granulowanego z dodatkiem substancji organicznej. Baranow i Szczepietielnikowa (1951) stwierdzili, że fosfor w tych granulatach ulegał w glebie znacznie wolniej uwstecznieniu, niż w granulatach z samego tylko superfosfatu. Przyczyną tego mogło być przejście pod wpływem drobnoustrojów fosforu mineralnego w granulatach z substancją organiczną w związki organiczne fosforu. Według bowiem danych Bieriozowej i Riempie (1951) dzięki obecności w tych granulatach substancji organicznej następuje wewnątrz nich silny rozwój mikroflory.

Omówione wyniki badań nad stosowaniem sposobów biologicznego uruchamiania fosforu, z trudno przyswajalnych fosforanów, wskazywałyby na to, że niektóre z tych metod, szczególnie kompostowanie fosforytów

[1] W jednym z kompostów ilość przyswajalnego fosforu podobno wzrosła pod wpływem szczepienia o 185 mg P_2O_5 na 1 kg kompostu, w porównaniu z kontrolą. Sądzimy, że taki szybki (po 20 dniach kompostowania) proces rozpuszczania fosforytów w naturalnym środowisku jest nieprawdopodobny.

oraz przygotowanie granulatów fosforytowych z substancją organiczną, mogłyby mieć pewne znaczenie dla praktyki rolniczej. Wymagałoby to bliższego opracowania.

3. Mineralizacja organicznych związków fosforu

Organiczne związki fosforu gromadzą się w glebie w resztkach roślinnych, zwierzęcych, w komórkach drobnoustrojów oraz w związkach próchnicznych. Występują w nich najczęściej pod tymi samymi postaciami, co w żywych organizmach, a więc w kwasach nukleinowych, fitynach, lecytynach, fosforanach, w cukrowcach, w enzymach itd. W glebie związki te ulegają złożonym, mało jeszcze poznanym przemianom biochemicznym. W związku z tym, przy oznaczaniu ilości i struktury organicznych połączeń fosforu w glebie, otrzymywano bardzo różnorodne wyniki (Askinazi 1949, Dean 1949, Broadbent 1955, Sauerlandt i współpracownicy 1957).

Dean (1949) wyraża przypuszczenie, że fosfor organiczny występuje w glebie w znacznej ilości pod postacią kwasów nukleinowych. Należy przypuszczać, że poważnym źródłem tych połączeń są komórki drobnoustrojów, gdyż fosfor występuje w nich głównie w tej postaci (około 80% wg Waksmana 1927). Według Musierowicza (1955 kwasy nukleinowe mogą być sorbowane w glebie przez minerały ilaste, ulegając wtedy trudniej hydrolizie pod działaniem nukleazy drobnoustrojów.

Fityna, jako sól wapniowo-magnezowa kwasu fitynowego występuje w glebach obojętnych i alkalicznych zasobnych w wapń i magnez, natomiast w glebach kwaśnych fityniany znajdujemy przeważnie w postaci soli żelaza i glinu (Askinazi 1949, Musierowicz 1955). Bower (1945 — wg Deana 1949) znalazł w glebie 26—35% fosforu organicznego w postaci kwasu fitynowego i 11—14% w postaci pochodnych tego kwasu. Podobne wyniki otrzymał w swoich badaniach Norgard (1953). Sauerlandt (1957) zwraca jednak uwagę na to, że wskutek braku odpowiedniej metody nie można wydzielić fityny z gleby.

Fityna jest bardziej trwała w środowisku obojętnym, natomiast kwasy nukleinowe — w środowisku kwaśnym. W związku z tym, zdaniem Musierowicza (1955), w różnych glebach — zależnie od ich odczynu — różnie będzie się kształtował stosunek między ilością kwasów nukleinowych i ilością fityny.

Lecytyna i fosforany cukrowców, jako łatwo ulegające rozkładowi, nie mają prawdopodobnie większego znaczenia dla gromadzenia się organicznych związków fosforu w glebie.

Fosfor organiczny, jak już wspomnialiśmy o tym (str. 6), występuje głównie w wierzchnich, żyznych warstwach gleby, tj. tam, gdzie są korzystne warunki dla rozwoju drobnoustrojów i gdzie rozwija się główna masa korzeni roślin. Sauerlandt (1957) notował w glebie pod owsem, w miarę rozwoju tych roślin, przyrost ilości organicznych związków fosforu. Autor

objaśnia to korzystnym wpływem roślin na rozmnażanie się drobnoustrojów.

Dodać należy, że i same rośliny mogą wydzielać do gleby pewne ilości organicznego fosforu. Ostatnio bowiem Michael i Marschner (1958), posługując się metodą izotopową stwierdzili w doświadczeniach z pszenicą, że rośliny te wydzielały fosfor głównie w postaci związków organicznych. W normalnych warunkach rozwoju roślin znajdowali wydzielanie 0,2% tego składnika w stosunku do ilości jego w roślinach.

Chejfec (1956) stwierdził przy pomocy radioaktywnego fosforu, że proces wydzielania fosforu był różny u badanych roślin: najsilniej przejawiał się u buraków cukrowych, słabiej u kukurydzy, a najsłabiej u pszenicy jarej.

Procesy mineralizacji organicznych związków fosforu w glebie są jeszcze mało poznane. Zagadnienie to z punktu widzenia zdolności enzymatycznej gleb usiłowali wyjaśnić Jackman i Black (1952 a, b). Między innymi określali oni stopień hydrolizy związków fitynowych dodanych do gleb, pod wpływem obecnej w nich fitazy. Zwrócili przy tym uwagę, że aktywność tego enzymu była w środowisku glebowym proporcjonalna do ilości wydzielanego dwutlenku węgla. Ilość tę traktowali jako wskaźnik rozwoju mikroflory w glebie. Zauważyli ponadto, że grzyby mają większą od bakterii zdolność do wytwarzania fitazy. Autorzy stwierdzili wprawdzie rozkład związków fitynowych pod działaniem fitazy glebowej, ale nie znaleźli w glebie hydrolizy organicznych związków fosforu pod wpływem wprowadzonej do niej z zewnątrz fitazy. Widocznie związki fitynowe ulegają w glebie albo szybkiemu rozkładowi, albo też przekształcają się w bardziej niedostępne połączenia. Askinazi (1949) wyraża bowiem przekonanie, że preparaty fosforu organicznego wydzielone z gleby są bardziej odporne na działanie drobnoustrojów, niż czyste ich połączenia chemiczne.

Thompson i współprac. (1954), trzymając próbki glebowe w temp. 40°, znaleźli w nich po 25 dniach hodowli dodatnią korelację między ilością zmineralizowanych związków fosforu, a ilościami zmineralizowanych związków węgla i azotu.

Chociaż wiadomo, że organiczne związki fosforu ulegają rozkładowi pod wpływem drobnoustrojów, nie zbadano jednak dotychczas, czy zdolność ta jest właściwa poszczególnym ich gatunkom, czy też jest zjawiskiem powszechnym. Nie wiemy także, jakie warunki są najbardziej korzystne dla przebiegu tego procesu w środowisku glebowym.

Do wyjaśnienia tych zagadnień przyczyniły się w pewnym stopniu prace Mienkinej (1950, 1951). Autorka ta wyodrębniła na selektywnej pożywce szczepy bakterii, posiadające zdolność mineralizowania organicznych połączeń fosforu. Wśród tych szczepów znalazła zarodnikujące laseczki, które określiła jako *Bac. megatherium var. phosphaticum*, oraz niezarodnikujące drobne pałeczki — z rodzaju *Serratia*. Drobnoustroje te w sztucznych pożywkach nie tylko mineralizowały kwas nukleinowy i lecytynę, ale korzystały nadto z tych związków jako ze źródła materiału energetycznego.

Wprowadzone do sterylizowanego torfu lub czarnoziemu powodowały, jak podaje Mienkina, w pierwszym tygodniu hodowli znaczny przyrost ilości przyswajalnego fosforu (+ 11—34%), ale po siedmiu dniach miał następować w badanych podłożach spadek ilości dostępnej formy tego składnika.

Ta sama autorka otrzymała też dodatnie wyniki, badając w doświadczeniach wazonowych wpływ szczepienia wymienionymi szczepami bakterii na plon roślin uprawnych. Obecnie szczep gatunku *Bac. megatherium var.. phosphaticum* jest w ZSRR stosowany jako szczep macierzysty do produkcji szczepionek pod nazwą Fosforobakteryny. Szczepionkę tę wprowadza się na dużą skalę do praktyki rolniczej. Ze zbiorowej publikacji Samojłowa i współprac. (1953) wynikałoby, że szczepionka ta wywiera także w warunkach polowych korzystny wpływ na plon roślin uprawnych.

Wartość Fosforobakteryny produkowanej w ZSRR sprawdzali Fidler i Jahn (1956). W doświadczeniach wykonanych metodą Neubauera, oraz w kilku wazonowych i polowych nie stwierdzili oni jednak wyraźniejszego działania tej szczepionki. W jednym z doświadczeń autorzy zwrócili uwagę na to, że obok szczepionki także naturalny zespół drobnoustrojów, przy właściwym stosunku węgla do fosforu w glebie, może wpływać na proces mineralizacji organicznych związków fosforu. Autorzy ci sądzą, że pełna ocena wartości Fosforobakteryny w warunkach NRD wymaga jeszcze przeprowadzenia większej ilości doświadczeń.

Kaila (1954) wyraża pogląd, nie dokumentując go danymi doświadczalnymi, że mineralizacja organicznych związków fosforu najsilniej przebiega w warunkach korzystnych dla rozwoju drobnoustrojów psychrofilnych. Działanie drobnoustrojów mezofilnych jest słabsze, a najsłabiej działają tu drobnoustroje termofilne.

4. Asymilacja fosforu przez drobnoustroje

Jak wiadomo drobnoustroje nie tylko uruchamiają fosfor z mineralnych i organicznych jego połączeń, ale również przyswajają ten składnik na budowę swojego organizmu, powodując jego unieruchomienie. W komórkach drobnoustrojów znajduje się około 4—5% fosforu. Według Sokołowa (1950) w masie bakterii gromadzi się w przybliżeniu 5—25 kg P_2O_5 na 1 ha warstwy ornej gleby.

Fosfor, jako pierwiastek wchodzący w skład nukleoproteidów drobnoustrojów i biorący udział w reakcjach energetycznych, spełnia doniosłą rolę w funkcjach życiowych tych organizmów. Dlatego brak dostatecznej ilości przyswajalnego fosforu w środowisku hamuje rozwój drobnoustrojów (Stoklasa 1924, Niklas 1925, Ziemięcka 1929 c). Glathe (1943) i Strzelczyk (1958) notowali ze wzrostem dawek przyswajalnego fosforu w glebie przyrost w niej ilości niektórych grup fizjologicznych drobnoustrojów (np. azotobaktera i bakterii błonnikowych).

Niektóre drobnoustroje, jak *Azotobacter, Aspergillus niger, Cunninghamella elegans,* wykazują wymagania, pod względem zapotrzebowania na przyswajalny fosfor, zbliżone do wymagań roślin wyższych. Właściwość tę wykorzystano przy opracowaniu mikrobiologicznych metod oznaczania przyswajalnego fosforu w glebie (Christensen, Niklas, wg Ziemięckiej 1929 b, Ziemięcka 1929 b, Mehlich 1934).

Thompson i współpracownicy (1931), badając wpływ drobnoustrojów na uruchamianie fosforu z mineralnych jego związków w glebie, dochodzą do wniosku, że pewne ich rodzaje (np. azotobakter) są bardziej uzdolnione do asymilowania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów, inne natomiast przejawiają większą zdolność do rozpuszczania tych związków.

W warunkach silnego rozmnażania się drobnoustrojów w glebie mogą one więcej przyswoić fosforu na budowę swoich organizmów, niż uruchomić go z trudno przyswajalnych związków. Potwierdzają to badania Sewerina (1910, 1912), który notował w glebach z dodatkiem fosforanów wapnia, sterylizowanych i zakażonych wyciągiem glebowym znaczne obniżenie się ilości przyswajalnego fosforu (do około 45%), pod wpływem silnego rozwoju wprowadzonej mikroflory.

Należy zaznaczyć, że zbyt energiczne przyswajanie rozpuszczalnego fosforu przez silnie rozmnażające się drobnoustroje może być procesem niekorzystnym dla odżywiania roślin, zwłaszcza w młodym ich wieku, kiedy to rośliny najsilniej reagują na brak w glebie tego składnika w dostępnej formie.

Kudrin (1952) przywiązuje dużą wagę do pobierania fosforu przez drobnoustroje glebowe, a więc do przechodzenia fosforanów w postać organiczną. Fosfor organiczny jest, zdaniem tego badacza, rezerwą, która przeciwdziała jego chemicznemu uwstecznianiu.

Część zasymilowanego przez drobnoustroje fosforu wchodzi w skład związków komórek, a część jego — około 40% — pozostaje w komórkach w formie niezwiązanej (Stephenson 1949). Fosfor nie związany może być wydzielany przez nie do otoczenia.

Smalij (1956) na podstawie wyników otrzymanych przy pomocy izotopu P^{32} stwierdził, że intensywność pobierania i wydzielania fosforu jest różna u różnych bakterii. *Bac. megatherium i Pseudomonas nonliquefaciens,* wg danych tego autora, przyswajają największą ilość P^{32} w ciągu 24 godzin, natomiast azotobakter w ciągu 48 godzin. Początek wydzielania fosforu do pożywki notowano u dwóch pierwszych gatunków po 48 godzinach, u azotobaktera — po 72 godzinach hodowli.

Aby się przekonać, jaki wpływ wywiera proces przyswajania i uwalniania fosforu przez drobnoustroje na żywienie się roślin tym składnikiem, Smalij przeprowadził specjalne doświadczenie wegetacyjne. Sterylizowany piasek kwarcowy lub glebę obsiał nasionami pszenicy, które szczepił wyodrębnionymi z rizosfery roślin bakteriami. Po wschodach wprowadził do

podłoży P^{32}. Stwierdził, że rośliny szczepione pobierały fosforu więcej, niż kontrolne.

Podobne wyniki otrzymali: Kotelew (1955 a, b), Rubienczyk (1955) oraz Własiuk i Manzon (1955).

Stosunek ilościowy przyswajalnego fosforu do organicznych związków węgla i azotu ma niewątpliwie wpływ na nasilenie procesu asymilacji fosforu przez drobnoustroje. Sing Chen Chang (1939) zwrócił uwagę, że przy rozkładzie substancji organicznej przeważa w pierwszym jego okresie proces przyswajania fosforu mineralnego przez drobnoustroje. Następnie z chwilą wyczerpania się łatwo przyswajalnych źródeł węgla następuje mineralizacja fosforu organicznego. W kompostowanym materiale roślinnym z dodatkiem około 5% K_2HPO_4 badacz ten znalazł po 2 miesiącach 7 razy więcej fosforu organicznego, niż na początku doświadczenia.

Kaila (1954) w swojej pracy usiłowała określić, jaką ilość fosforu z substancji organicznej podczas jej rozkładu pobierają drobnoustroje, a jaka — ulega pod ich wpływem mineralizacji. Na podstawie szczegółowych badań autorka stwierdziła, że drobnoustroje asymilują z rozkładanej substancji organicznej średnio 0,3% fosforu, w stosunku do jej ilości, a pozostała ewentualnie w tej substancji ilość związków fosforowych ulega pod ich wpływem mineralizacji. Ilość zasymilowanego przez drobnoustroje fosforu może być niższa podczas rozkładu substancji organicznej w warunkach beztlenowych, lub w temperaturze odpowiedniej dla rozwoju drobnoustrojów termofilnych. Zdaniem Kaili słoma wprowadzona do gleby, jako materiał o dużej ilości węglowodanów, a zawierająca tylko 0,05—0,1% P_2O_5, może spowodować, w wyniku silnego rozwoju drobnoustrojów, nie tylko asymilację fosforu zawartego w tym materiale, ale nadto pobranie przyswajalnego fosforu z gleby. Natomiast sfermentowany obornik, choć zawiera mało związków fosforu, nie wywołuje wg tej autorki, dzięki małej ilości przyswajalnych źródeł węgla, procesu pobierania fosforu z gleby przez drobnoustroje. Kaila uważa, że w środowisku glebowym niebezpieczeństwo sorpcji biologicznej fosforu może być tylko w torfach niskich.

5. Badania nad drobnoustrojami wywołującymi przemiany związków fosforowych w glebie

Całokształt przemian związków fosforowych w glebie jest sumą procesów biologicznych i chemicznych, przebiegających różnie, zależnie od warunków środowiska i od czynników biologicznych (Feher 1934, 1935). O stopniu przyswajalności fosforu glebowego dla roślin decydować będzie wypadkowa z procesów uruchamiania tego składnika, jego uwstecznania i biologicznej asymilacji.

Próbę bliższego zbadania zespołów drobnoustrojów, czynnych w glebie i w rizosferze niektórych roślin w przemianach różnych związków fosforowych, zapoczątkowała u nas Gołębiowska (1957). W pierwszej kolejności

opracowała, opierając się o wyniki pracy Lechheada (1938), przystosowaną do tego celu metodę badawczą. Metoda ta umożliwia rozróżnienie w zespołach drobnoustrojów, na podstawie stosunku do różnych związków fosforu, następujące grupy drobnoustrojów:

1) korzystające z fosforu zawartego w związkach mineralnych i organicznych,
2) wykorzystujące lepiej fosfor mineralny,
3) wykorzystujące lepiej fosfor organiczny,
4) rozpuszczające fosforan trójwapniowy,
5) mineralizujące glicerofosfat.

Po przebadaniu szczepów, zawartych w 57 zespołach autorka stwierdziła, że w rizosferze roślin przewagę miały drobnoustroje odżywiające się fosforem organicznym i mineralizujące tę formę fosforu, natomiast w glebie poza zasięgiem korzeni główną grupę stanowiły drobnoustroje rozwijające się lepiej na fosforze mineralnym, niż organicznym. Charakterystyczne było liczniejsze występowanie drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w rizosferze owsa i ziemniaka.

* * *

Badania nad współudziałem drobnoustrojów w przemianach związków fosforowych w glebie są więc jeszcze słabo rozwinięte. Jakkolwiek w ostatnich latach coraz więcej podejmuje się prac z tego zakresu, nie są one jednak prowadzone na szerszą skalę, ponadto otrzymywane wyniki mają charakter fragmentaryczny. Nie wyjaśniono dotychczas, z wyjątkiem nielicznych, rodzajów drobnoustrojów, jakie ich grupy fizjologiczne biorą udział w poszczególnych procesach, wywołujących przemiany związków fosforowych. W pracach nad tym zagadnieniem zwraca się głównie uwagę na tlenowe bakterie mezofilne, nie wiadomo jednak, jakie mają tu znaczenie drobnoustroje psychrofilne i termofilne w tlenowych i beztlenowych warunkach swojego rozwoju. Nie wiemy także, jaka jest rola grzybów i promieniowców w tych procesach.

Bliższe poznanie biologii drobnoustrojów, wpływających na przemiany związków fosforowych, może przyczynić się do znalezienia sposobów lepszego wykorzystania przez rośliny uprawne dużych zapasów fosforu, które zawarte są w glebie i w nawozach fosforowych.

BADANIA WŁASNE

Ogólnym celem niniejszej pracy było poznanie właściwości i warunków rozwoju drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapniowe oraz zbadanie ich rozprzestrzenienia w rizosferze różnych roślin. Nadto starano się sprawdzić, czy przyrządzane z nich szczepionki mogą skutecznie wpływać

na pobieranie fosforu przez rośliny uprawne. Związany z tym cykl badań przeprowadzony został w latach 1954—58 i obejmował:

1) opracowanie metodyki wyodrębniania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia,

2) poznanie właściwości wyodrębnionych szczepów tych drobnoustrojów,

3) zbadanie ich zdolności do rozpuszczania fosforanów wapniowych i fosforytów w warunkach glebowych,

4) oznaczenie rozprzestrzenienia drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia i mineralizujących organiczne związki fosforu w rizosferze roślin, z uwzględnieniem wpływu rodzaju i wieku różnych roślin na kształtowanie się mikroflory czynnej przy przemianach fosforu,

5) określenie wpływu bakterii rozpuszczających fosforany wapnia, stosowanych jako szczepionki, na rozwój i plon roślin. Usiłowano przy tym poznać warunki umożliwiające skuteczne działanie szczepionek na uruchamianie fosforu w glebie.

A. DROBNOUSTROJE ROZPUSZCZAJĄCE FOSFORANY WAPNIOWE

Sposoby wyodrębniania tych drobnoustrojów

Poszukując podłoża najbardziej przydatnego do wyodrębniania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapniowe, sprawdzono wartość niektórych pożywek, stosowanych dotychczas przez różnych autorów w badaniach nad drobnoustrojami „fosforowymi", tj. wywołującymi przemiany różnych mineralnych i organicznych związków fosforu. Były to następujące pożywki:

Pożywka Mienkinej (1950). Płytki z żelu krzemionkowego nasyca się 3—5 ml roztworu soli i glikozy oraz daje się na te płytki po 5 mg P_2O_5 w postaci kwasu nukleinowego lub lecytyny. Skład roztworu soli i glikozy: $(NH_4)_2SO_4$ — 0,5 g, NaCl — 0,3 g, KCl — 0,3 g, $MgSO_4$ — 0,3 g, $FeSO_4$ — ślady, $MnSO_4$ — ślady, $CaCO_3$ — 5 g, glikoza — 10 g, woda destylowana — 1000 ml. Pożywka ta stosowana była przez autorkę do wyodrębniania drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu. W naszych badaniach fosfor organiczny zastąpiono fosforanem trójwapniowym, który dawano na płytkę w ilości 5, lub 10 mg P_2O_5; ponadto sole i glikozę dawano w koncentracji 10 razy większej, niż w pożywce przygotowywanej przez Mienkinę.

Pożywka Pikowskiej (1948). Skład pożywki: $Ca_3(PO_4)_2$ — 5.0 g, glikoza — 20,0 g, NaCl — 0,2 g, $MgSO_4$ — 0,1 g, $MnSO_4$ — ślady, $FeSO_4$ — ślady, agar — 20,0 g, woda wodociągowa — 1000 ml. Pożywkę tę w naszej pracy zmodyfikowano, dodając do niej 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$ oraz 12,5 ml wyciągu drożdżowego i 12,5 ml wyciągu glebowego na litr pożywki. pH pożywki — około 7,0.

Pożywka Gerretsena (1948). Skład pożywki: asparagina — 1,0 g, glikoza — 1,0 g, wyciąg z marchwi [1] — 1000 ml, agar — 20,0 g. Po wysterylizowaniu tej pożywki i ostudzeniu jej do 50° dodaje się do niej 0,5 ml 10% roztworu K_2HPO_4 i 10 ml 10% roztworu $CaCl_2$. W pożywce wytrąca się wówczas jednorodna zawiesina $CaHPO_4$. pH pożywki — około 7,0.

Pożywka Johnston (1951). Różni się od pożywki Gerretsena sposobem przygotowania. Autorka ta poleca rozcierać w moździerzu na mokro 5 g $CaHPO_4$ lub $Ca_3(PO_4)_2$, a następnie uzupełnić tę zawiesinę wodą do pojemności 500 ml. Jeden ml tej zawiesiny daje się przed sterylizacją pożywki do każdych 15 ml agaru marchwiowego przygotowanego wg sposobu Gerretsena. pH pożywki — około 7,0.

Pożywka Fiodorowa (1951). Skład pożywki: bulion odżywczy — 1000 ml, $Ca_3(PO_4)_2$ — 5 g, glikoza — 20 g, agar — 20 g. pH pożywki — około 7,0.

Na wymienione pożywki wysiewano próbki różnych gleb. Posiewów dokonywano, rozkładając na powierzchni płytek grudki gleby, lub też stosując metodę rozcieńczeń, przy czym gleby wysiewano w rozcieńczeniu 1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 100 000.

Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapniowe określano na podstawie przezroczystych stref w miejscach rozpuszczania trójwapniowego fosforanu, pojawiających się wokół ich kolonii. Strefy te występowały najczęściej po 2—4 dniach hodowli w temp. 28—30°.

Najbardziej przydatną do wyodrębniania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia okazała się zmodyfikowana agarowa pożywka Pikowskiej. Strefy rozpuszczania na tej pożywce powstawały wokół kolonii różnych drobnoustrojów już po 2 dniach. Szerokość ich wynosiła wtedy 1—5 mm. W miarę dalszej hodowli — do 14 dni — strefy rozpuszczania zwykle powiększały się, zyskując równocześnie na przejrzystości. W starszych hodowlach obserwowano niejednokrotnie matowienie tych stref, co świadczyłoby o wtórnym uwstecznianiu się rozpuszczonych fosforanów.

Z innych stosowanych pożywek na uwagę zasługuje pożywka Fiodorowa na bulionie. Jednakże szybkie zarastanie bulionu przez pleśnie przeszkadza w rozróżnianiu w nim drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia, wobec czego drobnoustroje te należy wyodrębniać na tej pożywce już po 24 godzinach.

Pożywki Mienkinej, Gerrestena i Johnston w naszych badaniach okazały się nieprzydatne do wyodrębniania poszukiwanych drobnoustrojów, gdyż strefy rozpuszczania fosforanów wapniowych nie były na nich widoczne. Należy podkreślić, że rozwój kolonii drobnoustrojów na pożywce Gerretsena i Johnston był bardzo bujny.

[1] Wywar z 1 kg marchwi w 1 litrze wody.

Wysiew korzeni roślin przy badaniu drobnoustrojów rizosfery

Sprawdzając przydatność niektórych pożywek stosowanych do wyodrębniania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia, wypróbowano także z dobrym wynikiem sposób polegający na zakażaniu pożywek z pomocą korzeni roślin. Polegał on na tym, że na powierzchnię agarowej pożywki Pikowskiej umieszczano po kilka drobnych (długości 2—5 cm) odcinków korzeni roślin, jednorazowo wypłukanych w sterylizowanej wodzie. Po kilku dniach notowano pojawianie się wokół korzeni kolonii drobnoustrojów, dających strefy rozpuszczania fosforanów wapnia. Ilustruje to fotografia rys. 1.

Opis wyodrębnionych szczepów drobnoustrojów

Posługując się pożywką Pikowskiej, wyodrębniono z piasku gliniastego oraz z korzeni: łubinu, owsa i ziemniaka kilkadziesiąt szczepów drobnoustrojów, mogących rozpuszczać fosforany wapnia (fot. rys. 2—5). Do dalszych badań wybrano 23 szczepy bakterii i 10 szczepów grzybów.

Celem bliższego poznania tych drobnoustrojów określono niektóre ich cechy morfologiczne i hodowlane. Uwzględniono przy tym stosunek tych szczepów do różnych źródeł azotu i węgla, oraz określono ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego.

Cechy morfologiczne wyodrębnionych drobnoustrojów

Wśród wyodrębnionych bakterii wyróżniono 16 szczepów pałeczek i 7 szczepów podobnych do dyfteroidów. Znaleziono przy tym pałeczki różnej wielkości, tworzące najczęściej na agarowej pożywce Pikowskiej szarobiałe kolonie, brunatniejące w starszych hodowlach. Na fotografiach rys. 6. 7 przedstawiono niektóre typy tych pałeczek.

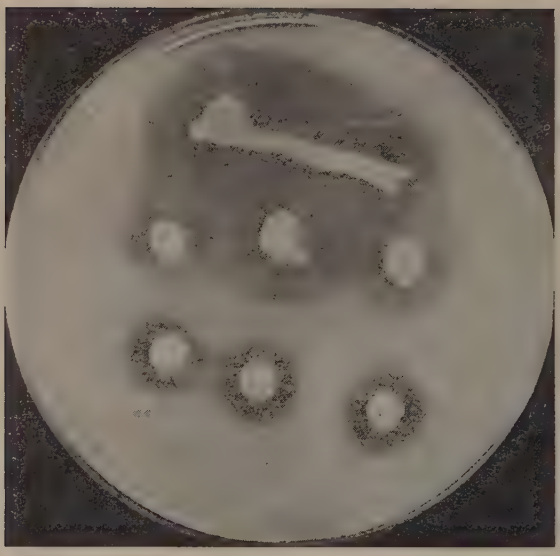
Kolonie drobnoustrojów podobnych do dyfteroidów odznaczały się przeważnie płaskim kształtem, o powierzchni lekko pomarszczonej, barwy żółtawej, fluoryzującej. W preparatach mikroskopowych niektórych z tych kolonii obserwowano obok form wydłużonych również i krótkie pałeczki. Przedstawicieli tych bakterii widzimy na fotografiach rys. 8, 9. U szczepu nr 3 notowano w kilkudniowych jego hodowlach fragmentację form wydłużonych w krótkie pałeczki (fot. rys. 9, 10). Wśród badanych drobnoustrojów na uwagę zasługuje szczep nr 32, którego pałeczki były maczugowato zakończone (fot. rys. 11).

Poza tym wyodrębniono 2 szczepy drożdży z rodzaju *Rhodotorula* (fot. rys. 12, 13) i 8 szczepów pleśni, które wszystkie należały do rodzaju *Penicillium*.

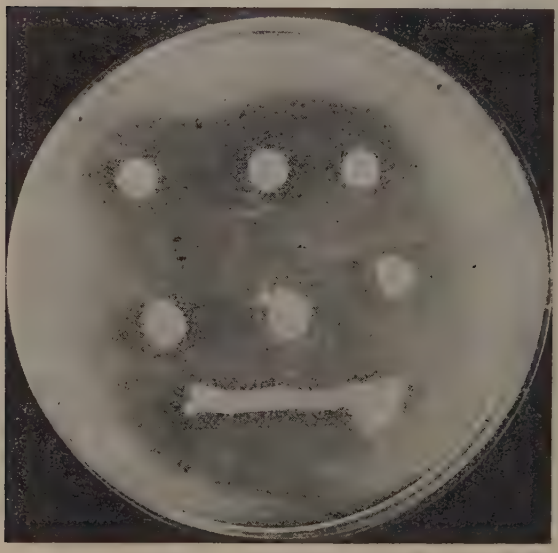
Rys. 1*. Korzenie łubinu na pożywce Pikowskiej po 2 dniach hodowli
Fig. 1. The roots of lupin on Pikowska agar culture medium after 2 incubation days

Rys. 2. Szczep bakterii nr 9 na pożywce Pikowskiej po 5 dniach hodowli
Fig. 2. The bacteria strain no. 9 on Pikowska agar culture medium after 5 incubation days

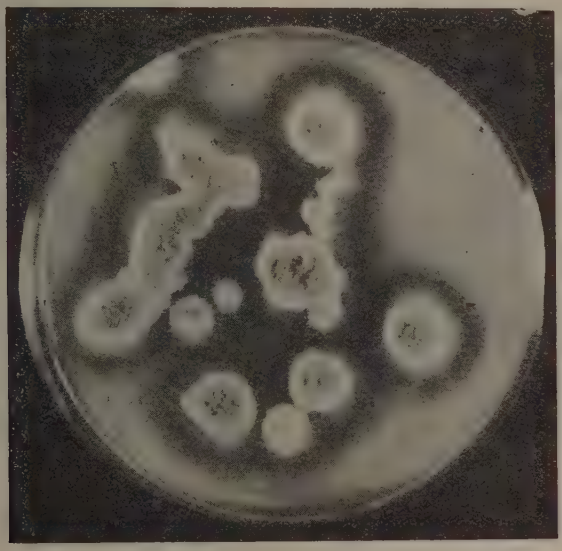
* Fot. 1—15 wykonał Spóz M. — pracownik IUNG, Puławy.



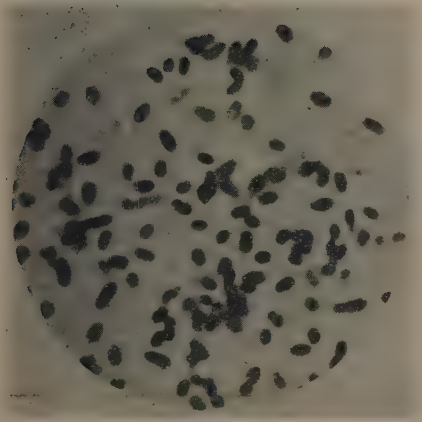
Rys. 3. Szczep bakterii nr 14 na pożywce Pikowskiej po 5 dniach hodowli
Fig. 3. The bacteria strain no. 14 on Pikowska agar culture medium after 5 incubation days



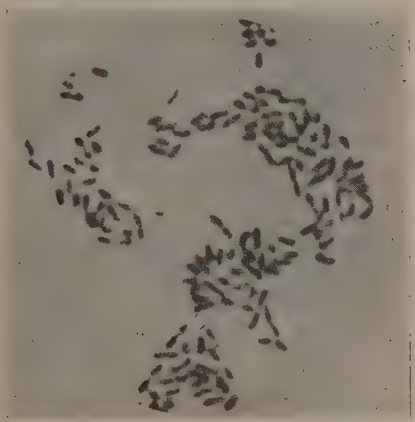
Rys. 4. Szczep bakterii nr 14 na pożywce Pikowskiej po 11 dniach hodowli
Fig. 4. The bacteria strain no. 14 on Pikowska agar culture medium after 11 incubation days



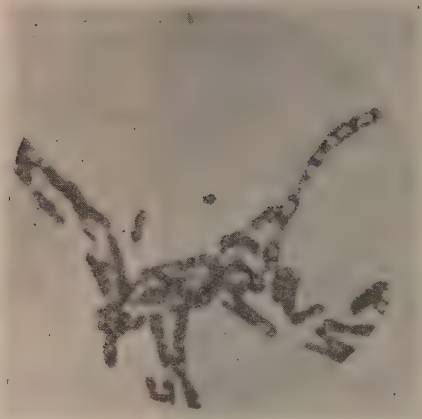
Rys. 5. Penicillium — szczep C na pożywce Pikowskiej po 5 dniach hodowli
Fig. 5. Penicillium — strain C on Pikowska agar culture medium after 5 incubation days



Rys. 6. Szczep bakterii nr 10. Powiększenie 3400 ×
Fig. 6. The bacteria strain no. 10, 3400 ×

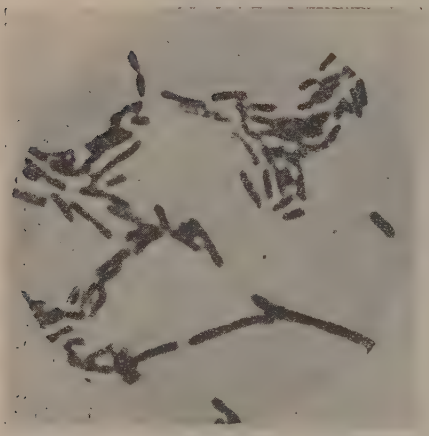


Rys. 7. Szczep bakterii nr 9. Powiększenie 3400 ×
Fig. 7. The bacteria strain no. 9. 3400 ×

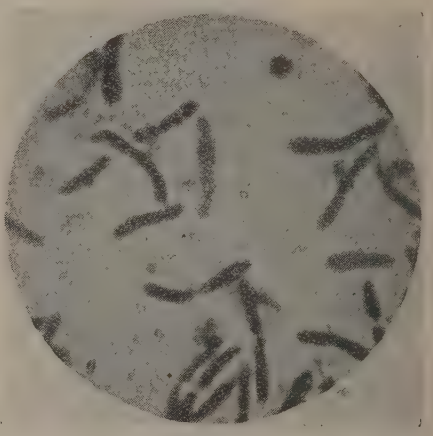


Rys. 8. Szczep bakterii nr 7. Powiększenie 3400 ×
Fig. 8. The bacteria strain no. 7. 3400 ×

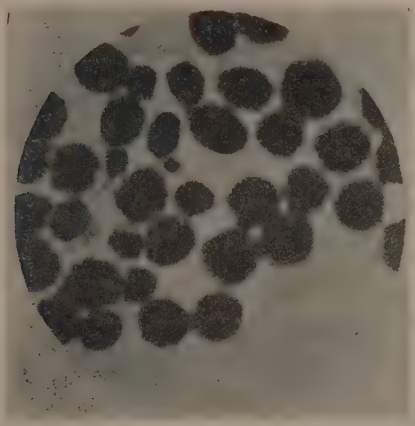
Rys. 9. Szczep bakterii nr 3 po 72 godz. hodowli. Powiększenie 3400 ×
Fig. 9. The bacteria strain no. 3 after 72 incubation hours. 3400 ×



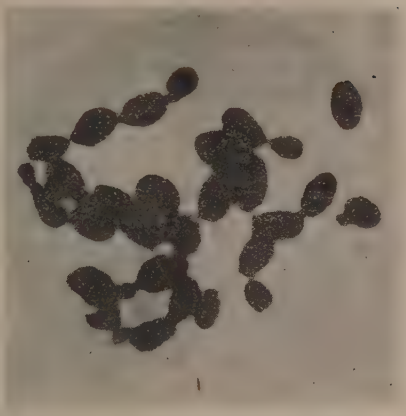
Rys. 10. Szczep bakterii nr 3 po 96 godz. hodowli. Powiększenie 3400 ×
Fig. 10. The bacteria strain no. 3 after 96 incubation hours. 3400 ×



Rys. 11. Szczep bakterii nr 32. Powiększenie 3400 ×
Fig. 11. The bacteria strain no. 32. 3400 ×



Rys. 12. Rhodotorula — szczep nr 16. Powiększenie 3400 ×
Fig. 12. Rhodotorula — strain no. 16. 3400 ×



Rys. 13. Rhodotorula — szczep nr 28. Powiększenie 3400 ×
Fig. 13. Rhodotorula — strain no. 28. 3400 ×

Rozwój wyodrębnionych drobnoustrojów na różnych związkach azotu

W celu poznania zdolności wyodrębnionych szczepów do korzystania z soli amonowych i z azotanów, prowadzono hodowle (na płytkach) w agarowej pożywce Pikowskiej bez azotu lub z dodatkiem $(NH_4)_2SO_4$ lub KNO_3, w ilościach po 0,5 g tych związków na litr. Na bulionie z agarem (bez dodatku fosforanu wapnia i glukozy) sprawdzono też możliwość korzystania przez nie z azotu organicznego. Zdolność do proteolizy badano w hodowlach kłutych na żelatynie. Ilość równoległych powtórzeń w każdej hodowli wynosiła 2. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Wśród badanych bakterii były takie, które lepiej wykorzystywały azot mineralny i takie, dla których przydatniejszy okazał się azot organiczny podany w bulionie lub żelatynie. Ze związków mineralnych lepszą pożywką był azot amonowy, niż azotanowy. Niektóre z badanych drobnoustrojów mogły korzystać z azotu mineralnego i organicznego (bulion i żelatyna). Wśród 15 szczepów o kształcie pałeczek znaleziono tylko 5 amonifikujących (nr 14, 25, 26, 30, 34). Natomiast wszystkie szczepy podobne do dyfteroidów glebowych odznaczały się zdolnościami rozpuszczania żelatyny.

Badane grzyby słabo rozwijały się na bulionie i na żelatynie.

Penicillia rozwijały się silnie zarówno na azocie amonowym, jak i azotanowym, podczas gdy *Rhodotorulae* rosły lepiej na azocie amonowym.

Tabela 1

Rozwój wyodrębnionych szczepów[1] na różnych związkach azotu
The developoment of isolated strains[1] on different nitrogen compounds

L.p. O.n.	Rodzaj drobnoustrojów Kind of microorganisms	Symbol szczepu Symbol of strain	Agarowa pożywka Pikowskiej z różnymi źródłami N Agar culture medium with different N compounds			Bulion agar Agar broth	Żelatyna Gelatin	
			bez N without	$(NH_4)_2SO_4$	KNO_3			
			wzrost growth				wzrost growth	rozpuszczanie liquefaction
			Bakterie Bacteria					
1	Pałeczki Rods	1	xx	xxx	xx	x	x	
2		2	xx	xxx	xx	x	x	
3		6	xx	xxx	xx	x	x	
4		8	xx	xxx	xx	x	x	brak rozpuszczania
5		9	xx	xxx	xx	x	x	no liquefaction
6		10	xx	xxx	xx	x	x	
7		11	xx	xxx	xx	x	x	
8		13	xx	xxx	xx	x	x	
9		5	o	xx	x	x	x	brak rozpuszczania
10		15	x	xx	x	x	x	no liquefaction
11		21	x	xx	x	x	x	
12		14	xx	xx	xx	xxx	xx	warstwowe — do 1 cm layer — to 1 cm
13		25	x	xx	o	xx	xx	kielichowate —
14		26	x	xx	o	xx	xx	0,5—1 cm
15		30	x	x	o	xx	xx	chalicelike — 0,5—1 cm
16		34	o-x	xx	x	xx	xx	
17	Podobne do dyfteroidów Similar to diphtheroides	3	x	xx	o	x	xx	kielichowate —
18		4	x	xx	x	x	xx	0,5—1 cm
19		7	x	xx	xx	xx	xx	chalicelike — 0,5—1 cm
20		12	o	xx	x	x	xx	
21		18	xx	xx	xxx	xxx	xxx	warstwowe — 1,5—2 cm
22		22	x	x	xx	xxx	xxx	layer — to 1,5—2 cm
23		32	x	x	o	xxx	xxx	
			Grzyby Fungi					
24	*Rhodotorula*	16	o-x	xx	x	x	x	brak rozpuszczania
25		28	x	xx	x	x	x	no liquefaction

L.p. O.n.	Rodzaj drobnoustrojów Kind of microorganisms	Symbol szczepu Symbol of strain	Agarowa pożywka Pikowskiej z różnymi źródłami N Agar culture medium with different N compounds			Bulion agar Agar broth	Żelatyna Gelatin	
			bez N wihout	$(NH_4)_2SO_4$	KNO_3			
			wzrost growth				wzrost growth	rozpuszczanie liquefaction
26		A	x	xxx	xxx	x	x	
27		B	x	xxx	xxx	x	x	
28		C	x	xxx	xxx	x	x	
29	*Penicillium*	D	x	xxx	xxx	x	x	brak rozpuszczania no liquefaction
30		E	x	xxx	xxx	x	x	
31		H	x	xxx	xxx	x	x	
32		I	x	xxx	xxx	x	x	
33		J	x	xxx	xxx	x	x	

o brak wzrostu — no growth
o—x bardzo słaby wzrost — growth very slight
x słaby wzrost — growth slight
xx średni wzrost — growth moderate
xxx silny wzrost — growth strong

[1] Obserwacje po 4—5 dniach hodowli; na żelatynie — po 9 dniach
[1] Observations after 4—5 incubation days; on gelatin — after 9 incubation days

Rozwój wyodrębnionych drobnoustrojów na różnych związkach węgla

Celem tych badań było prześledzenie, jaki wpływ mają różne związki węgla na rozwój wyodrębnionych szczepów i na rozpuszczanie przez nie fosforanów wapnia. Badania te prowadzono na agarowej pożywce Pikowskiej. Jako źródło węgla dodawano do niej albo glikozę w dawkach 20 g lub 1 g na litr, albo też po 10 g: mannitolu, octanu sodu lub cytrynianiu sodu. Do pożywek tych dodawano także po 5 ml na litr 0,5 % alkoholowego roztworu błękitu bromotymolowego jako wskaźnika odczynu. Początkowo pH pożywek doprowadzano do pH 7,1—7,5. Po rozlaniu pożywek do płytek wysiewano na powierzchni agaru rysą wodne zawiesiny komórek badanych szczepów. Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. 2.

Obserwując rozwój badanych szczepów na różnych źródłach węgla zauważano, że na ogół szczepy bakterii i grzybów, poza nielicznymi wyjątkami, dobrze rosły na glikozie i mannitolu, słabo natomiast na octanie i cytrynianie sodu. Większość szczepów bakterii o kształcie pałeczek tworzyła na glikozie i mannitolu kolonie o powierzchni gładkiej, natomiast na cytrynianie sodu — kolonie szorstkie.

Wpływ różnych związków węgla na rozwój wyodrębnionych szczepów
The development of isolated strains and the calcium phosphate dissolving on the cul

L.p. O.n.	Rodzaj drobnoustrojów Kind of microorganisms	Symbol szczepu Symbol of strain	Agarowa pożywka Pikowskiej Agar culture medium with					
			0,1% glikozy 0,1% glucose			2% glikozy 2% glucose		
			wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium
						Bakterie		
1		1	x	v	6,5—6,7	xxx	vv—vvv	<6,1
2		2	x	v	6,5	xxx	vv—vvv	6,1
3		6	xx	v	6,7	xxx	vv—vvv	6,1
4		8	x	v	6,5	xxx	vv—vvv	6,1
5		9	xx	v	6,5—6,7	xxx	vv—vvv	6,1
6		10	xx	v	6,5—6,7	xxx	vv—vvv	6,1
7		11	xx	v	6,5	xxx	vv—vvv	6,1
8	Pałeczki	13	x	v	6,5	xxx	vv—vvv	6,1
9	Rods	5	xx	v	6,5—6,7	xxx	vv	<6,1
10		15	xx	v	6,9	xxx	vv	<6,1
11		21	xx	v	6,7—6,9	xx	vv	<6,1
12		14	x	v	6,5	xx	vvvv	<6,1
13		25	xx	v	6,1	xx	vv	<6,1
14		26	xx	v	6,1	xxx	vvv	<6,1
15		30	x	v	6,3	xxx	vvv	<6,1
16		34	xx	vv	6,1	xxx	vvv	6,1
17	Podobne	3	xx	v	6,1	xxx	vvv	<6,1
18	do dyf-	4	xx	v	6,3	xxx	vvv	6,1
19	teroidów	7	xx	v	6,1	xxx	vvv	<6,1
20	Similar	12	xx	v	6,1—6,3	xxx	vvv	<6,1
21	to diphther	18	xxx	v	6,1	xxx	vv	<6,1
22	oides	22	xx	v	6,1	xx	v	<6,1
23		32	x	v	6,9—7,1	x	v	6,9—7,1
						Grzyby		
24	*Rhodo-*	16	xx	v	6,3	xx	vv	6,1
25	*torula*	28	xx	vv	6,1	xxx	vv	6,1
26		A	xx	v	6,1	xxx	vvvv	<6,1
27		B	xx	v	6,1	xxx	vvvv	<6,1
28		C	xx	v	6,1	xxx	vvvv	<6,1
29	*Penicil-*	D	xx	v	6,1	xxx	vvvv	<6,1
30	*lium*	E	xx	v	6,1	xxx	vvvv	<6,1
31		H	xx	o	6,1	xxx	vvvv	<6,1
32		I	xx	vv	6,1	xxx	vvvv	<6,1
33		J	xx	vv	6,1	xxx	vvvv	<6,1

o brak wzrostu — no growth
o-x bardzo słaby wzrost — growth very slight
x słaby wzrost — growth slight
xx średni wzrost — growth moderate
xxx silny wzrost — growth strong

[1] pH pożywek z octanem i cytrynianem sodu wynosiło na początku 7,5 — pH
pH of culture media with natrium acetate and natrium citrate at the beginning:

Tabela 2

i na rozpuszczanie przez nie fosforanów wapnia. Obserwacje po 4—5 dniach hodowli
tur media with different carbon compounds. Observations — after 4—5 incubation days

z różnymi związkami węgla different carbon compounds								
1 % mannitolu 1% mannite			1% octanu sodu 1% natrium acetate			1 % cytrynianu sodu 1% natrium citrate		
wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3 PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium
Bacteria								
xxx	v	6 1	x	o	7,5	x	o	7,5
xxx	v	6,1	x	o	7,5	x	o	7,5
xxx	v	<6,1	x	o	7,5	xx	o	7,5
xxx	v	<6,1	o—x	o	7,5	x	o	7,5
xxx	v	6,1	x	o	7,5	xx	o	7,5
xxx	v	<6,1	x	o	7,5	xx	o	7,5
xxx	v	6,1	x	o	7,5	xx	o	7,5
xxx	v	6,1	o—x	o	7,5	xx	o	7,5
xx	v	6,1	o—x	o	7,3	o—x	o	7,1
x	v	6,9	o—x	o	7,5	o—x	o	7,5
xx	v	—	o—x	o	7,5	x	o	7,5
xx	v	<6,1	x	o	7,5	x	o	7,5
xxx	o	<6,1	o—x	o	7,1	x	o	7,5
xxx	v	<6,1	o—x	o	7,5	xx	o	7,5
xxx	o	<6,1	o—x	o	7,5	o—x	o	7,5
xx	o	<6,1	o—x	o	7,1	x	o	7,5
xxx	v	<6,1	o—x	o	7,1	xx	o	7,5
xxx	v	6,1	o—x	o	7,1	xx	o	7,5
xxx	v	<6,1	o—x	o	7,1	xx	o	7,5
xxx	v	<6,1	o—x	o	7,1	xx	o	7,5
xx	o	<6,1	xx	o	7,3	xx	o	7,5
xxx	o	<6,1	o	o	7,5	x	o	7,5
x	v	<7,1	o	o	7,5	o—x	o	7,5
Fungi								
xx	o	6,1—6,3	xx	o	7,5	xx	o	6,7—6,9
x	o	6,9	x	o	7,7	xx	o	6,7—6,9
xx	vv	6,3—6,5	o—x	o	7,5	o—x	o	7,5
xx	v	6,1	o—x	o	7,5	o	o	7,5
xx	v	6,1	o—x	o	7,5	o	o	7,5
xx	o	6,1	o—x	o	7,5	o—x	o	7,5
xx	vv	6,1	o—x	o	7,5	o—x	o	7,5
xxx	vv	6,1	o	o	7,5	o	o	7,5
xx	v	6,1	o	o	7,5	o	o	7,5
xx	v	6,1	o	o	7,5	o	o	7,5

o brak rozpuszczania — no dissolving
v słabe rozpuszczanie — dissolving slight
vv średnie rozpuszczanie — dissolving moderate
vvv silne rozpuszczanie — dissolving strong
vvvv bardzo silne rozpuszczanie — dissolving very strong

pozostałych pożywek — 7,1
7,5 — pH of remaining culture media — 7,1

Zastosowane źródła węgla wpłynęły nie tylko na nasilenie rozwoju wyodrębnionych szczepów, ale także na stopień rozpuszczania przez nie fosforanów wapnia, które przejawiało się najsilniej na glikozie, słabiej na mannitolu. Na solach sodowych kwasu octowego i cytrynowego nie wystąpiły strefy rozpuszczania tych związków.

Na ogół przy silniejszym rozpuszczaniu fosforanów wapnia notowano większe zakwaszenie pożywki. Na małej dawce glikozy (1 g na litr pożywki) widoczne było, mimo słabszego zakwaszenia pożywki, silniejsze rozpuszczanie fosforanów wapnia pod wpływem niektórych szczepów (nr 25, 30, 18, 22), niż na większej dawce mannitolu (10 g na litr). Wskazywałoby to, że nie tylko kwasy decydowały tu o rozpuszczaniu fosforanów.

Zdolność wyodrębnionych drobnoustrojów do rozpuszczania fosforanów wapnia w podłożach syntetycznych

Zdolność do rozpuszczania fosforanów wapnia przez badane szczepy oceniano na płytkach z pożywką Pikowskiej na podstawie stref rozpuszczania tych związków. Szerokość stref rozpuszczania, pojawiających się pod wpływem tych szczepów, wynosiła po 4—5 dniach hodowli zależnie od aktywności badanych organizmów, od około 1 do 10 mm.

Jak widać z tab. 2, większość wyodrębnionych drobnoustrojów silnie rozpuszczała fosforany wapniowe w pożywce z glikozą. Spośród pałeczek dużą aktywnością wyróżniał się szczep nr 14 uzdolniony równocześnie do proteolizy. Aktywne były także pałeczki o bujnym śluzowatym wzroście, m. in. szczepy nr 2, 9, 13. Natomiast drobne pałeczki szczepów nr 5, 15, 21, tworzących białe płaskie kolonie, rozpuszczały znacznie słabiej fosforan trójwapniowy. Również wśród drobnoustrojów zbliżonych do dyfteroidów znaleziono obok szczepów o dużej aktywności przy rozpuszczaniu fosforanów wapnia (nr 3, 4, 7, 12), szczepy o słabej aktywności (nr 22, 32). Spośród badanych szczepów grzybów — *Penicillia* okazały się bardziej aktywne, niż *Rhodotorulae*.

Obok oceny zdolności rozpuszczania fosforanów wapnia przez badane szczepy na agarowej pożywce Pikowskiej, określano tę zdolność dokładniej, oznaczano mianowicie w hodowlach płynnych ilości uruchomionego fosforu. Po wykonaniu tą metodą wstępnego doświadczenia z jednym szczepem bakterii (nr 9) i jednym szczepem grzyba (*Penicillium* A), w którym ten ostatni silniej rozpuszczał fosforan trójwapniowy od pierwszego, sprawdzono w dalszym ciągu w ten sposób stopień uzdolnienia do rozpuszczania tego związku 21 szczepów bakterii, oraz 10 szczepów grzybów. Każda erlenmajerka (o poj. 200 ml) z 20 ml pożywki zawierała po 50 mg $Ca_3(PO_4)_2$. Pożywki po ich wyjałowieniu zakażono 1 ml wodnej zawiesiny [1]

[1] Nie oznaczono ilości komórek znajdujących się w 1 ml zawiesiny, jak również nie odnotowano tu wieku hodowli.

Tabela 3

Ilości uruchomionego fosforu z $Ca_3(PO_4)_2$ pod wpływem badanych szczepów w płynnej pożywce Pikowskiej, po 10 dniach hodowli

Amount of released phosphorus out of $Ca_3(PO_4)_2$ under the influence of examined strains in liquid culture medium, after 10 incubation days

L. p. O. n.	Rodzaj drobnoustrojów Kind of microorganisms	Symbol szczepu Symbol of strain	pH pożywki pH of culture medium	Ilość uruchomionego fosforu mg P_2O_5 na 1 kolbkę Amount of released phosphorus mg P_2O_5 per 1 flask
		Bakterie Bacteria		
1		pożywka kontrolna control medium	6,0	< 2,5
2	Pałeczki Rods	1	3,8	16,5—20,5
3		2	3,8	16,5
4		6	3,8	16,5—20,5
5		8	4,2—4,0	16,5—20,5
6		9	3 8	16,5—20,5
7		10	4,0—3,8	16,5—20,5
8		11	4,4—4,2	16,5—20,5
9		13	3,8	20,5
10		5	3,8	16,5
11		15	4,4—3,8	16,5
12		21	4,4	16,5
13		14	3,8—3,0	22,0
14		26	4,2	16,5
15		30	4,0	20,5
16		34	4,0—3,8	16,5—20,5
17	Podobne do dyfteroidów Similar to diphtheroides	3	4,1—4,0	16,5
18		4	3,8	16,5
19		7	4,0—3,8	16,5
20		12	4,2—4,0	16,5—20,5
21		18	4,2	16,5
22		32	5,2	2,5
		Grzyby Fungi		
23	*Rhodotorula*	16	5,4	4,0—8,0
24		28	4,6	16,5—20,5
25	*Penicillium*	A	2,0—3,0	16,5
26		B	1,0—2,0	12,5
27		C	6,0	12,5
28		D	2,0—3,0	12—16,5
29		E	4,0	12—16,5
30		H	2,0—3,0	12—16,5
31		I	3,0	12—16,5
32		J	3,0	8—12,5

badanych szczepów. Ilość równoległych powtórzeń wynosiła 2 lub 3. Hodowlę prowadzono przez 10 dni w temp. 28—30°. Ilość rozpuszczonego fosforu oznaczano kolorymetrycznie, orientacyjną metodą J. Wondrausch. Odczyn hodowli określano przy pomocy błękitu bromotymolowego i zieleni bromokrezolowej.

Z przedstawionych w tab. 3 wyników widzimy, że większość zbadanych w tym doświadczeniu szczepów silnie rozpuszczała fosforan trójwapniowy. Ilości rozpuszczonego fosforu były w hodowlach 3—9 razy wyższe, niż w pożywce kontrolnej i wynosiły 18—97% tego składnika związanego w fosforanie trójwapniowym. Wartości te jednak — ze względu na orientacyjny charakter stosowanej metody J. Wondrausch — trzeba uważać jedynie za przybliżone.

W hodowlach zakażonych *Penicillium* znaleziono na ogół mniej rozpuszczonego fosforu, niż w hodowlach bakterii. Wynikało to z pobrania dużej ilości tego składnika przez grzybnię *Penicillium*, która rozwijała się znacznie silniej, niż masa bakterii.

Jak poprzednio, silniejszemu rozpuszczaniu trójwapniowego fosforanu towarzyszyło silniejsze zakwaszenie pożywki.

Grzyby w większym stopniu zakwaszały pożywkę niż bakterie. Wyjątek stanowiła hodowla zakażona szczepem *Penicillium C*, której odczyn nie uległ po 10 dniach zmianie w porównaniu z hodowlą kontrolną, mimo silnego rozpuszczania fosforanu trójwapniowego pod wpływem tego grzyba. Było to prawdopodobnie wynikiem wtórnych reakcji biochemicznych, jakie mogły mieć miejsce w tej hodowli w ciągu 10-dniowego okresu trwania doświadczenia.

Ogólna charakterystyka wyodrębnionych drobnoustrojów

Wyodrębnione szczepy bakterii rozwijały się w warunkach tlenowych i nie tworzyły przetrwalników. Szczepy ich o kształcie drobnych pałeczek — dające na pożywce Pikowskiej białoszare śluzowe kolonie — dobrze wykorzystywały azot mineralny szczególnie amonowy, słabo natomiast azot organiczny, zawarty w bulionie i żelatynie (tab. 1, 4).

Natomiast szczepy reprezentowane przez pałeczki o koloniach fluoryzujących, barwy żółtej lub białoszarej, oraz podobne do dyfteroidów, rozpuszczały żelatynę i dobrze na ogół rozwijały się na azocie podanym w bulionie. Lepiej wykorzystywały azot amonowy, niż azotanowy, na którym wiele z badanych szczepów nie wykazywało wcale wzrostu (np. szczepy nr 3, 25, 26, 32 — tab. 1).

Wśród wyodrębnionych grzybów wyróżniono tylko dwa rodzaje: *Rhodotorula* i *Penicillium*. Szczepy te słabo rozwijały się na azocie zawartym w bulionie i żelatynie. *Penicillia* wykorzystywały zarówno dobrze azot amonowy jak i azotanowy. *Rhodotorulae* natomiast rosły lepiej na solach amonowych (tab. 1).

Tabela 4

Ogólna charakterystyka wyodrębnionych drobnoustrojów

General characteristic of isolated microorganisms

Symbol szczepów Symbol of strain	Kształt i wielkość komórek w Shape and dimension of cells in μ	Wygląd kolonii na agarowej pożywce Pikowskiej Aspect of colonies on agar culture medium	Wzrost na różnych związkach azotu Growth on different nitrogen compounds	Zdolność do rozpuszczania fosforanów wapnia Calcium phosphate dissolving ability
nr: 1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 21	Krótkie pałeczki Short rods 0,3—0,7 × × 0,5—1,5	Kolonie śluzowe, białoszare. Wzrost wzniesiony, obfity, lub płaski umiarkowany	Silniej rosną na $N\text{-}NH_4$, niż na $N\text{-}NO_3$; słabo na bulionie i żelatynie. Żelatyny nie rozpuszczają	Umiarkowana lub silna. Słabsza u szczepów nr: 5, 15, 21 Moderate or strong. Slighter with strains no.: 5, 15, 21
nr: 14, 25, 26, 30, 34	Krótkie pałeczki Short rods 0,3—0,7 × × 0,5—1,5	Kolonie o powierzchni nieco szorstkiej, barwy żółtej, fluoryzujące, lub barwy białoszarej. Wzrost płaski, umiarkowany	Dobrze rosną na $N\text{-}NH_4$; na $N\text{-}NO_3$ z wyjątkiem szczepów nr 14 i nr 34, nie wykazują wzrostu. W stopniu średnim lub silnie rozwijają się na bulionie i żelatynie. Żelatynę rozpuszczają	Silna, u szczepu nr 14 bardzo silna Strong, with strain no. 14 very strong
nr: 3, 4, 7, 12, 18, 22, 32	Podobne do dyfteroidów Similar to diphtheroides	Kolonie o powierzchni nieco szorstkiej barwy żółtej, fluoryzujące lub barwy białoszarej. Wzrost płaski, umiarkowany, lub wzniesiony, silny	Na azocie mineralnym rosną różnie. Silnie na ogół rozwijają się na bulionie, szczególnie na żelatynie. Żelatynę rozpuszczają	Różna: u jednych szczepów silna (nr: 3, 4, 7, 12) u innych — umiarkowana lub słaba (nr: 18, 22, 32) Different: with some strains strong (no.: 3, 4, 7, 12) with others-moderate or slight (no.: 18, 22, 32)

Symbol szczepów Symbol of strain	Kształt i wielkość komórek w Shape and dimension of cells in — μ	Wygląd kolonii na agarowej pożywce Pikowskiej Aspect of colonies on agar culture medium	Wzrost na różnych związkach azotu Growth on different nitrogen compounds	Zdolność do rozpuszczania fosforanów wapnia Calcium phosphate dissolving ability
nr: 16, 28	Rodzaj *Rhodotorula* *Genus Rhodotorula* 1,5—2,1 × × 2,0—3,2	Kolonie o powierzchni i brzegu gładkim, barwy różowej. Wzrost niezbyt silny	Silniej rosną na $N\text{-}NH_4$, niż na $N\text{-}NO_3$, słabo na bulionie i żelatynie. Żelatyny nie rozpuszczają	Umiarkowana Moderate
A, B, C, D, E, H, I, J	Rodzaj *Penicillium* *Genus Penicillium*	Grzybnia barwy zielonej lub zielonożółtej, z różnymi odcieniami. Wzrost silny	Dobrze rosną na $N\text{-}NH_4$ i na $N\text{-}NO_3$. Na bulionie i żelatynie — słabo. Żelatyny nie rozpuszczają	Bardzo silna Very strong

Zdolność badanych szczepów do rozpuszczania fosforanów wapnia zależała od rodzaju źródła węgla, najsilniej przejawiała się na glikozie, słabiej na mannitolu, a na solach sodowych kwasu octowego i cytrynowego nie wystąpiła wcale (tab. 2).

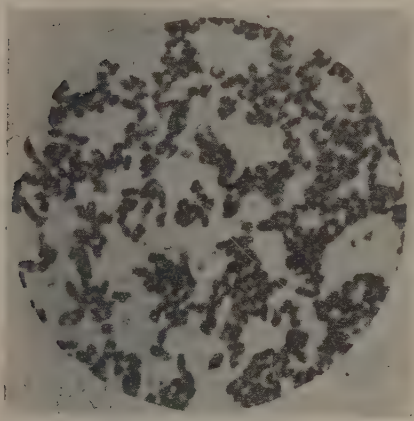
Spośród bakterii największą zdolnością do rozpuszczania fosforanów wapnia odznaczały się organizmy o kształcie pałeczki i niektóre dyfteroidy rozkładające związki białkowe. Drobne pałeczki, tworzące białoszare śluzowe kolonie, były na ogół w średnim stopniu uzdolnione w tym kierunku. *Penicillia* silniej rozpuszczały fosforany wapnia niż *Rhodotorulae* (tab. 2).

Warunki uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów wapnia przez wybrane dwa szczepy bakterii (nr 13 i nr 14)

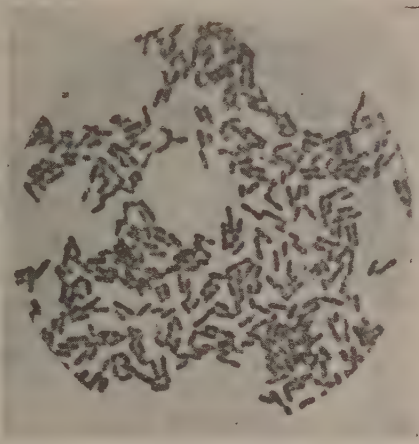
Nieco dokładniej zbadano właściwości szczepów bakterii nr 13 i nr 14, które — ze względu na ich różny stopień aktywności przy rozpuszczaniu fosforanów wapnia w pożywkach syntetycznych — zastosowano w doświadczeniach wegetacyjnych. Mianowicie szczep nr 14 energicznie rozpuszczał te związki, natomiast szczep nr 13 — w stopniu umiarkowanym (patrz tab. 2). W szczególności starano się określić przynależność systematyczną tych szczepów oraz poznać warunki, w jakich uruchamiają one fosfor z trudno przyswajalnych fosforanów wapnia w podłożach syntetycznych i w glebie.

Przynależność systematyczna szczepów nr 13 i 14

Na podstawie zbadanych właściwości morfologicznych i fizjologicznych, które zestawiono w tab. 5, szczep nr 13 zaliczono do rodzaju *Pseudomonas*, a szczep nr 14 do rodzaju *Achromobacter* (Bergey 1948, Krasilnikow 1949). Oba szczepy stanowią drobne, nie tworzące przetrwalników, gramujemne [1], tlenowe pałeczki (fot. rys. 14, 15).



Rys. 14. Szczep bakterii nr 13. Powiększenie 3400 ×
Fig. 14. The bacteria strain no. 13. 3400 ×



Rys. 15. Szczep bakterii nr 14. Powiększenie 3400 ×
Fig. 15. The bacteria strain no. 14. 3400 ×

Należą do tych saprofitów, które mogą wykorzystywać różne związki węgla; cukry przemieniają w kwasy. Szczep nr 14 może przemieniać w kwasy większą ilość cukrów, niż nr 13 (tab. 8). Szczep nr 14 uzdolniony jest też do proteolizy.

Azot pobiera nie tylko ze związków organicznych, lecz także z mineralnych. Natomiast szczep nr 13 lepiej wykorzystuje azot mineralny, niż organiczny; związków białkowych nie rozkłada (tab. 1).

Wpływ różnych związków azotu na rozwój szczepów nr 13 i 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego

Zbadano tu wpływ następujących związków azotu (dodawano je w ilości po 0,1% do agarowej pożywki Pikowskiej): siarczan amonu, azotan sodu, mocznik, pepton, asparagina, d, l — kwas asparaginowy, d, l — tyrozyna, walina, d, l — lizyna, glicyna, d, l — cysteina, d, l — seryna, leucyna.

[1] Wykazujące wg metody Grama zabarwienie ujemne.

Tabela 5

Niektóre właściwości morfologiczne i fizjologiczne szczepów nr 13 i nr 14
Some morphological and physiological characteristics of strains no. 13 and no. 14

		Szczep nr 13 Strain no. 13	Szczep nr 14 Strain no. 14
Morfologia komórek na agarowej pożywce Pikowskiej Cell morphology on Pikowska agar medium	Kształt Shape	Krótkie pałeczki, występujące w młodym wieku w dwoinkach	Krótkie pałeczki
	Wymiary w μ Dimensions in μ	0,5—0,6 × 1,0—1,2	0,5—0,7 × 1,0—1,5
	Barwienie Grama Gram colouring	—	Wzrost średni, rysa
	Ruchliwość Motion	Słaba	Duża
	Formy przetrwalne Spores	0	0
Rodzaj użytych pożywek hodowlanych Different culture media	Rysa na agarze z bulionem Growth on agar broth	Wzrost skąpy, rysa rozlana, o powierzchni gładkiej błyszczącej, barwy szarobiałej	Wzrost silny, rysa rozlana o powierzchni delikatnie szorstkiej, barwy szarobiałej, mieniącej się kolorami
	Rysa na pożywce Pikowskiej Growth on Pikowska medium	Wzrost silny, śluzowy, rysa rozlana o powierzchni gładkiej, wilgotnej, barwy szarobiałej; w starszym wieku wokół rysy — drobne kryształy	Wzrost średni, rysa rozlana o powierzchni delikatnie szorstkiej, półmatowej, barwy białoszarej z odcieniem kremowym
	Rysa na pożywce Gräfa Growth on Gräf medium	Wzrost silny, rysa rozlana, o powierzchni gładkiej, błyszczącej, barwy szarobiałej	Wzrost silny, rysa rozlana, o powierzchni gładkiej, błyszczącej, barwy białawej
	Kolonie na agarze z bulionem Agar broth colonies	⌀ 2—3 mm, lekko wypukłe, o powierzchni gładkiej i brzegu równym	⌀ 2—3 mm, lekko wypukłe o powierzchni gładkiej i brzegu równym
	Kolonie na pożywce Pikowskiej Pikowska medium colonies	⌀ 2—4 mm, wypukłe, o powierzchni gładkiej, wilgotnej, brzegu równym	⌀ 2—3 mm, słabo wypukłe, środkiem wzniesione (pępkowate) o brzegu równym
	Kolonie na żelatynie Gelatin colonies	Bardzo drobne, — ⌀ < 1 mm, o powierzchni gładkiej, brzegu równym	Drobne, białe, — ⌀ do 1 mm, o brzegu gładkim
	Wzrost na ziemniaku Growth on potatoes	Wzrost średni, o powierzchni gładkiej, wilgotnej, barwy szarobrązowej	Wzrost silny, o powierzchni delikatnie szorstkiej, barwy białoszarej

		Szczep nr 13 Strain no. 13	Szczep nr 14 Strain no. 14
Fizjologia Physiology	Charakter odżywiania Nourishing type	Saprofit	Saprofit
	Stosunek do tlenu atmosferycznego Oxygen relation	Tlenowiec	Tlenowiec
	Stosunek do azotanów Nitrate relation	Redukuje azotany	0
	Wytwarzanie barwników Pigment forming	Kolonie białawe, przy słabszym wzroście przezroczyste, w starszym wieku brązowieją	Na pożywce agarowej bez N kolonie białoszare, na pożywkach z różnymi formami N białoszare z odcieniem kremowym; w starszym wieku kolonie brązowieją
	Wytwarzanie indolu Indol forming	0	0
	Rozpuszczanie żelatyny Gelatin liquefaction	0	Warstwowo, po 3 dniach do $^1/_2$ cm
	Mleko Milk	Nie wywołuje widocznych zmian w mleku	Mleko peptonizuje po 4 dniach do 1 cm
	Optymalny odczyn pożywki Optimum pH of medium	Około 7; granice rozwoju przy pH od 5,0—8,6	Około 7; granice rozwoju przy pH od 5,0—8,6
	Optymalna temperatura wzrostu Optimum growth temperature	Około 30°	Około 30°

arginina, d, l — tryptofan. Ponadto zastosowano agar bulionowy z dodatkiem 1% glikozy i 0,5% fosforanu trójwapniowego. Rozwój tych szczepów obserwowano na płytkach. Ilość równoległych powtórzeń — 2. Hodowle prowadzono przez 4 dni w temp. 28—30°.

Z przytoczonych w tab. 6 danych widać, że wymienione związki azotu wpływały w różny sposób na rozwój szczepów nr 13 i nr 14. Na azotanie sodu wzrost obu szczepów był silniejszy, niż na siarczanie amonu. Z połączeń azotu organicznego — pepton, asparagina i arginina były lepiej wykorzystywane przez te szczepy, niż cysteina, seryna lub tryptofan. Na bulionie szczep nr 14 rozwijał się silnie, podczas gdy szczep nr 13 w stopniu słabym.

Tabela 6

Rozwój szczepów nr 13 i nr 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanów wapnia w zależności od różnych związków azotu
Obserwacje — po 4 dniach hodowli

The development of strain no. 13 and no. 14 and their calcium phosphate dissolving ability subject to different nitrogen compounds
Observations — after 4 days of incubation

Związki azotu Nitrogen compounds	Szczep nr 13 Strain no. 13			Szczep nr 14 Strain no. 14		
	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki [1] pH of medium	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium
Bez N Without N	xx	++	4,2	xx	++++	4,2
$(NH_4)_2SO_4$	xxx	++	4,3	xxx	+++	4,2
$NaNO_3$	xxxx	o	nie określono not determined	xxxx	++	nie określono not determined
Agar na bulionie + 1% glikozy Agar broth + 1% glucose	x	o	bez zmian unchanged	xxx	o	6,5—7,3
Mocznik Urea	xxx	o	6,1—6,7	xxx	++	4,4
Pepton Peptone	xxxx	++	4,0	xxx	++++	3,8
Asparagina Asparagine	xxxx	o—+	4,2—5,0	xxxx	+++	4,2
D, l — kwas asparaginowy D, l — aspartic acid	xxx	+	4,2	x—xx	+++	4,4
D, l — tyrozyna D, l — tirosine	xxx	++	4,3	xxx	+++	4,3
Walina Valine	xx—xxx	++	4,4	xx	+++	5,4—6,1

D, l — lizyna D, l — lysine	xxx	+—++	4,2	xx	+++	4,5
Glicyna Glycine	x—xx	o	5,5—6,0	xxx	+	5,4—6,1
D, l — cysteina D, l — cysteine	xx	+—++	4,6—4,8	x—xx	+++	6,1
D, l — seryna D, l — serine	x—xx	+	4,4—4,6	xx	+++—+++	4,2—4,8
Leucyna Leucine	xxx	++	4,4—5,0	xxx	+++—+++	4,2—5,0
Arginina Arginine	xxx	o—+	4,6—4,8	xxxx	+	5,4—6,1
D, l — tryptofan D, l — tryptophan	xx	+	4,6—4,8	x—xx	+++	4,2—4,4
Mieszanina aminokwasów Mixture of aminoacids	xx—xxx	+	4,2—4,4	xx—xxx	+++—+++	4,2—4,4

Odczyn pożywek na początku —od 6,6 do 6,9
pH of culture media — from 6,6 to 6,9

o	brak wzrostu	— no growth	
o—x	bardzo słaby wzrost	— growth very slight	
x	słaby wzrost	— growth slight	
xx	średni wzrost	— growth moderate	
xxx	silny wzrost	— growth strong	
xxxx	bardzo silny wzrost	— growth very strong	

o	brak rozpuszczania	— no dissolving
o—+	bardzo słabe rozpuszczanie	— dissolving very slight
+	słabe rozpuszczanie	— dissolving slight
++	średnie rozpuszczanie	— dissolving moderate
+++	silne rozpuszczanie	— dissolving strong
++++	bardzo silne rozpuszczanie	— dissolving very strong

[1] W sąsiedztwie kolonii
[1] Only close to colonies

Użyte związki azotu wywierały wpływ na różny stopień rozpuszczania fosforanu trójwapniowego przez te bakterie. Między innymi pepton, tyrozyna, walina, wzmagały ten proces. Natomiast słabsze nasilenie rozpuszczania fosforanu trójwapniowego lub brak działania rozpuszczającego szczególnie w przypadku szczepu nr 13, notowano na pożywkach z azotanem sodu, mocznikiem, glicyną i argininą. Na bulionie z glikozą i z fosforanem trójwapniowym badane bakterie nie rozpuszczały wcale tego związku.

Dodać należy, że różne formy azotu wywarły również wpływ na właściwości hodowlane szczepu nr 14. Powierzchnia kolonii tej bakterii była na większości pożywek z podanymi źródłami azotu delikatnie pomarszczona, półmatowa, natomiast na pożywce z glicyną lub argininą szczep ten dawał kolonie o powierzchni gładkiej i wilgotnej. Na bezazotowej pożywce kolonie tej bakterii miały barwę białą, na pożywkach z zastosowanymi związkami azotu — kremową, przy czym na tryptofanie barwę kremową z odcieniem brunatnym. U szczepu nr 13 nie zauważono na ogół zmian w wyglądzie jego kolonii rosnących na różnych związkach azotu.

Wpływ różnych związków węgla na rozwój szczepów nr 13 i nr 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego

Uwzględniono tu następujące związki węgla, dodając je w ilości po 2% do agarowej pożywki Pikowskiej: glikoza, fruktoza, mannoza, galaktoza, sacharoza, maltoza, laktoza, mannitol, arabinoza, skrobia, cytrynian sodu, cytrynian wapnia, octan sodu, winian sodowo-potasowy, alkohol etylowy i gliceryna. Jak poprzednio, doświadczenie wykonano na płytkach. Ilość równoległych powtórzeń dla każdego związku — 2. Hodowlę prowadzono przez 4 dni w temp. 28—30°.

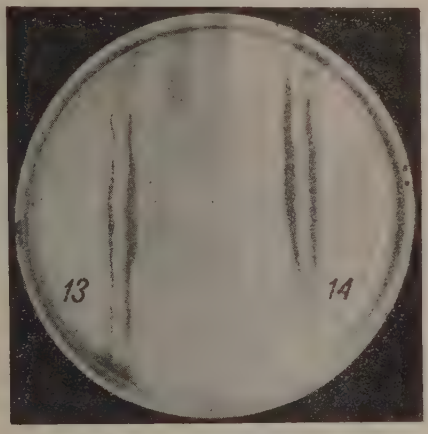
Jak widać z tab. 7, najsilniejszy rozwój obu szczepów nastąpił na cukrach pojedyńczych. Na maltozie i laktozie był on znacznie słabszy niż na sacharozie. Obojętne sole sodowe i wapniowe kwasów organicznych były słabo wykorzystywane przez te szczepy. Spośród zastosowanych alkoholi najlepszym źródłem węgla okazał się mannitol.

Proces rozpuszczania fosforanów wapnia przejawiał się najsilniej na pożywkach z cukrami, przy czym wraz ze wzrostem nasilenia tego procesu notowano zwiększenie się kwasowości pożywki. Brak rozpuszczania fosforanów wapnia na pożywkach z dwucukrami: maltozą i laktozą pod wpływem szczepu nr 13 — w odróżnieniu od hodowli na nich szczepu nr 14 — wskazywałby na odmienny aparat enzymatyczny u obu badanych bakterii. Na pożywce z fruktozą szczep nr 13 nie działał na fosforany wcale, a nr 14 — działał bardzo słabo. Być może, iż odmienny metabolizm wynikał z formy ketonowej tego cukru.

Spośród obojętnych soli kwasów organicznych jedynie na cytrynianie wapnia zaznaczyło się rozpuszczanie fosforanu trójwapniowego pod wpły-

Zdolność rozpuszczania fosforanu trójwapniowego przez szczepy bakterii nr 13 i 14, po około 10 dniach hodowli, w agarowej pożywce w obecności:
Calcium phosphates dissolving under influence of bacteria strains no. 13 and no. 14 after about 10 incubation days on agar culture medium with:

Rys. 16*. — cytrynianu sodu jako źródła węgla
Fig. 16. Natrium citrate as carbon source



Rys. 17. — cytrynianiu wapnia jako źródła węgla
Fig. 17. Calcium citrate as carbon source

wem badanych szczepów, przy równoczesnym utrzymaniu się słabo alkalicznego odczynu pożywki. Proces ten nie wystąpił na pożywce z cytrynianem sodu (porówn. fot. rys. 16, z rys. 17).

Uwalnianie fosforu z fosforytu i mączki kostnej przez szczepy nr 13 i nr 14

W dotychczasowych badaniach wykazano, że wyodrębnione drobnoustroje rozpuszczają w syntetycznych podłożach fosforan trójwapniowy. Ponieważ związek ten wchodzi w skład fosforytu, który — jak wiadomo — jest źródłem fosforu w glebie i surowcem dla utrzymywania nawozów fosforowych, dlatego w dalszym ciągu starano się poznać, w jakim stopniu badane szczepy mogą uwalniać fosfor z niskoprocentowych fosforytów krajowych. W niektórych doświadczeniach sprawdzono zdolność tych szczepów do uwalniania fosforu z mączki kostnej. Dla porównania przygotowano serie z fosforanem trójwapniowym. W pierwszych doświadczeniach stosowano pożywki syntetyczne, w następnych — glebowe.

* Fot. 16—42 wykonała Żywicka Wanda — prac. IUNG Gorzów Wlkp.

Tabela 7

Rozwój szczepów nr 13 i nr 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanów wapnia w zależności od różnych związków węgla
Obserwacje — po 4 dniach hodowli

The development of strains no. 13 and no. 14 and their calcium phosphate dissolving ability subject to different carbon compounds
Observations — after 4 days of the incubation

Związki węgla Carbon compounds	Szczep nr 13 Strain no. 13			Szczep nr 14 Strain no. 14		
	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki[1] pH of medium	wzrost growth	rozpuszczanie dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	pH pożywki pH of medium
Glikoza Glucose	xxx	++	4,2	xxx	++++	<3,8
Fruktoza Fructose	xxxx	o	6,5	xxxx	o—+	4,2
Mannoza Mannose	xxx	++	3,8	xxx	++	3,8
Galaktoza Galactose	xxx	++	4,0	xxx	++++	3,8
Sacharoza Saccharose	xxx	+	4,0	xxxx	++	3,9
Maltoza Maltose	x	o	6,7	x	+++	3,8
Laktoza Lactose	xx	o	6,6	x	+++	4,0
Mannitol Mannite	xxxx	o—+	5,0	xxx	+	4,2
Arabinoza Arabinose	xxx	++	4,0	xxx	+++	4,2

Skrobia Starch	o—x	o	7,1	o—x	o	7,1
Cytrynian sodu Natrium citrate	x	o	7,3	x	o	7,3
Cytrynian wapnia Calcium citrate	xx	+	7,3	xx	++	7,3
Octan sodu Natrium acetate	o—x	o	7,3	xx	o	7,6
Winian sodowo potasowy Natrium-kalium tartrate	xx	o	7,6	o—x	o	7,1
Alkohol etylowy Ethylalcohol	o—x	o	7,1	o—x	o	7,0
Gliceryna Glycerine	xx	o	6,9	xx	+	6,1

Odczyn pożywek na początku — zbliżony do obojętnego pH of culture media: ± 7,0

o brak wzrostu	— no growth	o brak rozpuszczania	— no dissolving
o—x bardzo słaby wzrost	— growth very slight	o—+ bardzo słabe rozpuszczanie	— dissolving very slight
x słaby wzrost	— growth slight	+ słabe rozpuszczanie	— dissolving slight
xx średni wzrost	— growth moderate	++ średnie rozpuszczanie	— dissolving moderate
xxx silny wzrost	— growth strong	+++ silne rozpuszczanie	— dissolving strong
xxxx bardzo silny wzrost	— growth very strong	++++ bardzo silne rozpuszczanie	— dissolving very strong

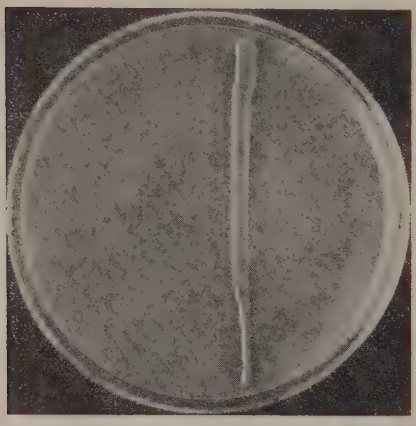
[1] W sąsiedztwie kolonii
[1] Only close to colonies

1. Doświadczenia na pożywkach syntetycznych

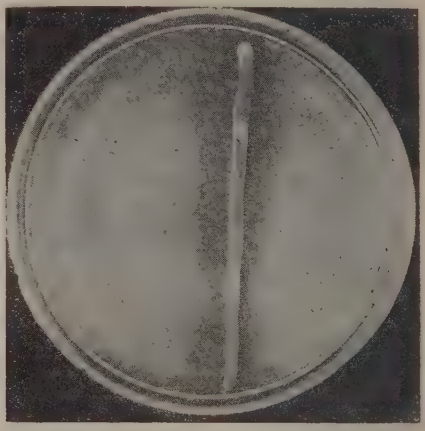
We wstępnym doświadczeniu wykonanym na płytkach agarowych z pożywką Pikowskiej zaobserwowano, że rozpuszczanie mączki fosforytowej zachodziło tylko pod wpływem szczepu nr 14, natomiast nie ujawniło się w hodowli szczepu nr 13 — (fot. rys. 18, 19). Mączka kostna ulegała rozpuszczaniu pod wpływem obu badanych szczepów (fot. rys. 20, 21).

Zdolność rozpuszczania mączki fosforytowej przez szczepy bakterii nr 13 i nr 14 w agarowej pożywce, po około 7 dniach hodowli

Phosphorite meal dissolving under influence of bacteria strains no. 13 and no. 14 on agar culture medium, after about 7 incubation days



Rys. 18. Hodowla szczepu nr 13
Fig. 18. Culture of strain no. 13



Rys. 19. Hodowla szczepu nr 14
Fig. 19. Culture of strain no. 14

W dalszych doświadczeniach stosowano płynną pożywkę Pikowskiej, do której zamiast fosforanu trójwapniowego dodawano mączkę fosforytową lub mączkę kostną. Doświadczenia prowadzono w erlenmajerkach o poj. 300 ml, napełniając je 30 ml pożywki. Każda kolbka zawierała po 150 mg tych produktów fosforowych. Po wyjałowieniu pożywek w kolbkach, zakażano je 0,2 ml zawiesiny kilkudniowej hodowli szczepów nr 13 i nr 14. Ilość równoległych kolbek wynosiła 2—3. Czas trwania hodowli — 10 dni w temp. 28—30°. Wyniki ilustruje tab. 8.

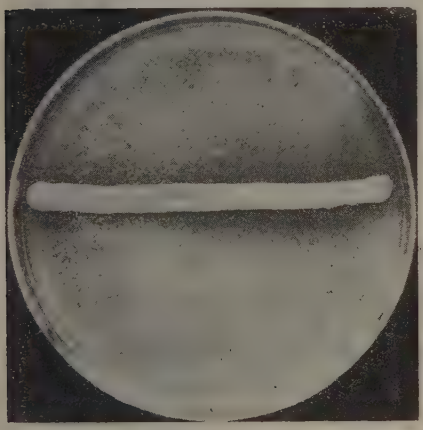
Podobnie jak w doświadczeniu na pożywce stałej, uruchamianie fosforu z mączki fosforytowej w pożywce płynnej wystąpiło tylko w hodowli szczepu nr 14, nie zaznaczyło się pod wpływem szczepu nr 13. Mączka kostna i fosforan trójwapniowy były równie energicznie rozpuszczane przez obydwa badane szczepy; ilości uwolnionego fosforu z tych produktów były nawet w hodowlach szczepu nr 13 większe, niż w hodowlach bardziej aktywnego szczepu nr 14. Również zakwaszenie ho-

dowli szczepu nr 13 na fosforanie trójwapniowym lub mączce kostnej było większe, w porównaniu z hodowlami szczepu nr 14.

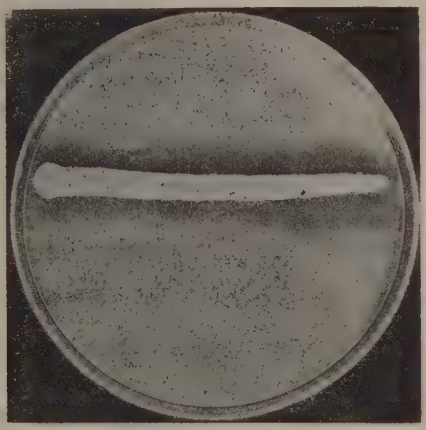
Dla wyjaśnienia tego procesu, jak również w celu dokładniejszego zbadania aktywności szczepów nr 13 i nr 14 przy uwzględnieniu czasu trwania hodowli, powtórzono to doświadczenie, zwiększając częstotliwość analiz. W szczególności określano zawartość rozpuszczalnego w wodzie

Zdolność rozpuszczania mączki kostnej przez szczepy bakterii nr 13 i nr 14 w agarowej pożywce, po około 7 dniach hodowli

Bone meal dissolving under influence of bacteria strains no. 13 and no. 14 on agar culture medium, after about 7 incubation days



Rys. 20. Hodowla szczepu nr 13
Fig. 20. Culture of strain no. 13



Rys. 21. Hodowla szczepu nr 14
Fig. 21. Culture of strain no. 14

fosforu oraz odczyn pożywki w hodowlach szczepów nr 13 i 14 po 4, 6, 8 i 10 dniach. Ilość równoległych kolbek wynosiła 2. Wyniki przedstawiono na rys. 22.

Z danych tych widać, że w hodowlach szczepu nr 13, na fosforanie trójwapniowym lub na mączce kostnej ilości rozpuszczalnego w wodzie fosforu wzrastały na ogół podczas trwania doświadczenia, natomiast w hodowlach z mączką fosforytową ilości tego składnika nie ulegały zmianie.

Przy użyciu szczepu nr 14 ilości uruchamianego fosforu z fosforanu trójwapniowego lub mączki kostnej początkowo wzrastały (do 63% P_2O_5 ogólnego zawartego w kolbkach), po czym następowało obniżenie się jego ilości, prawdopodobnie w wyniku wtórnego przejścia rozpuszczonego fosforu w fosforan trójwapniowy. W hodowlach z mączką fosforytową ilości rozpuszczonego fosforu pod wpływem tego szczepu wprawdzie wzrastały w miarę trwania doświadczenia, były jednak zawsze parokrotnie mniejsze w porównaniu z ilościami uruchamianego w tym czasie fos-

Tabela 8

Ilość uwalnianego fosforu z mączki fosforytowej i mączki kostnej przez szczepy nr 13 i nr 14 w płynnych pożywkach Pikowskiej, po 10 dniach hodowli

Amount of released phosphorus out of phosphorite meal and bone meal under the influence of strains no. 13 and no. 14 in liquid media, after 10 incubation days

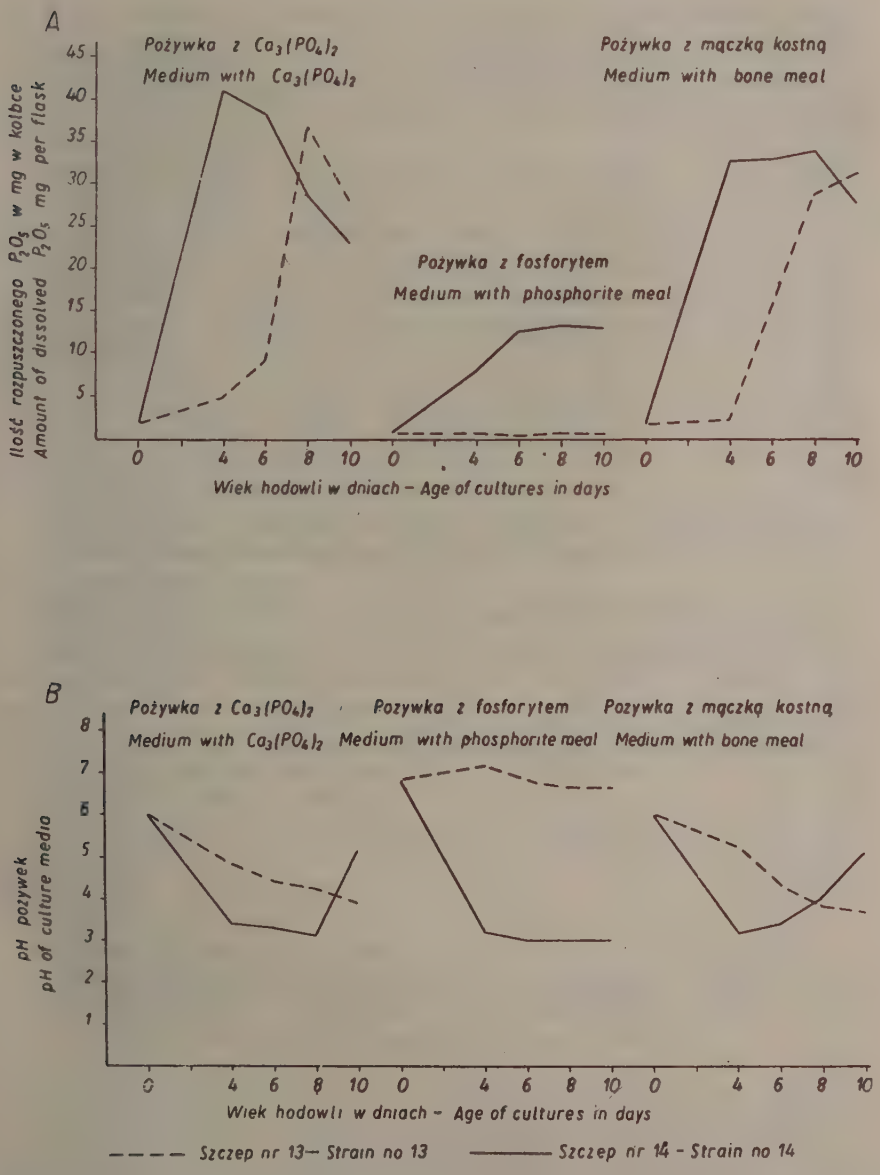
Nr szczepu No. of strain	Pożywki płynne: Liquid media: z $Ca_3(PO_4)_2$ with $Ca_3(PO_4)_2$			z fosforytem with phosphorite			z mączką kostną with bone meal		
	ilości rozpuszczonego w wodzie P_2O_5 w kolbce amount of dissolved in water P_2O_5 in flask		pH hodowli pH of culture medium	ilości rozpuszczonego w wodzie P_2O_5 w kolbce amount of dissolved in water P_2O_5 in flask		pH hodowli pH of culture medium	ilości rozpuszczonego w wodzie P_2O_5 w kolbce amount of dissolved in water P_2O_5 in flask		pH hodowli pH of culture medium
	w mg in mg	w % P_2O_5 ogólnego in % of total P_2O_5		w mg in mg	w % P_2O_5 ogólnego in % of total P_2O_5		w mg in mg	w % P_2O_5 ogólnego in % of total P_2O_5	
Pożywka nieszczepiona Uninoculated medium	4,23	6,48	6,4	1,07	4,54	6,7	3,77	6,96	6,5
nr 13 no. 13	37,42	57,35	3,8	0,58	2,46	6,7	34,13	63,05	3,7
nr 14 no. 14	19,18	29,39	5,2	14,11	59,91	3,1	31,87	58,87	5,2

foru z fosforanu trójwapniowego lub mączki kostnej (rys. 22). Mączka fosforytowa była więc trudniej rozpuszczalna, niż te ostatnie produkty.

Porównując przebieg krzywych, które przedstawiają zmiany w ilościach rozpuszczonego fosforu w poszczególnych seriach hodowli z krzywymi obrazującymi zakwaszenie tych hodowli (rys. 22), widzimy, że na ogół wraz ze wzrostem zakwaszenia pożywki następował w warunkach tego doświadczenia przyrost ilości rozpuszczonego w wodzie fosforu i że odwrotnie — przesunięciu się odczynu pożywki w kierunku zasadowym towarzyszyło zmniejszenie się ilości rozpuszczonego fosforu. Nie zawsze jednak zachodziła ścisła korelacja między ilością uruchomionego fosforu, a odczynem pożywki.

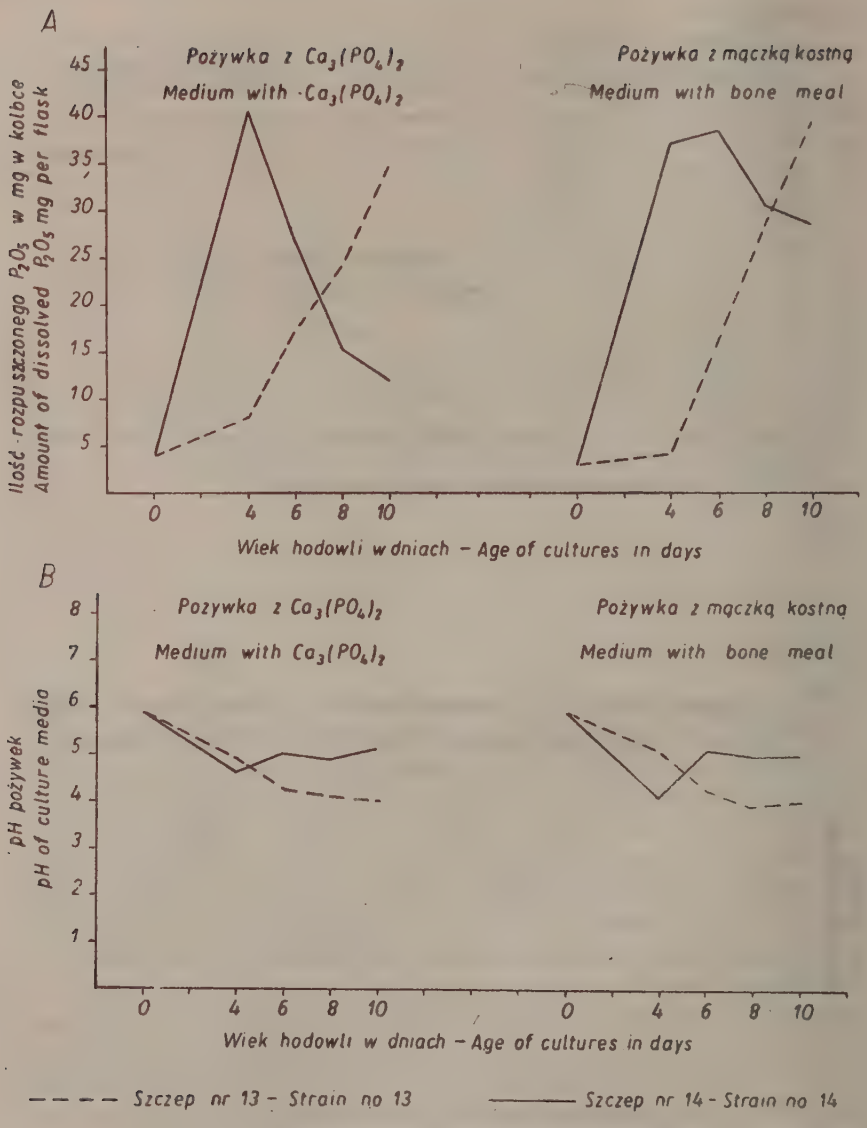
Aby sprawdzić, jak będzie się przedstawiać przebieg rozpuszczania fosforanu trójwapniowego lub mączki kostnej w hodowlach z badanymi szczepami przy większych dawkach tych produktów fosforowych, podwojono ich ilość w pożywkach, dając je po 300 mg do każdej kolbki. Poza tym warunki tego doświadczenia, czas i metody analiz były takie same, jak poprzednio omówionego.

Porównując otrzymane wyniki (rys. 23) z wynikami poprzedniego doświadczenia (rys. 22), widzimy, że przebieg rozpuszczania fosforanu trójwapniowego i mączki kostnej był podobny w obu doświadcze-


A
Pożywka z $Ca_3(PO_4)_2$
Medium with $Ca_3(PO_4)_2$
Pożywka z mączką kostną
Medium with bone meal
Pożywka z fosforytem
Medium with phosphorite meal
Ilość rozpuszczonego P_2O_5 w mg w kolbce
Amount of dissolved P_2O_5 mg per flask
Wiek hodowli w dniach – Age of cultures in days
B
Pożywka z $Ca_3(PO_4)_2$
Medium with $Ca_3(PO_4)_2$
Pozywka z fosforytem
Medium with phosphorite meal
Pozywka z mączką kostną
Medium with bone meal
pH pożywek
pH of culture media
Wiek hodowli w dniach – Age of cultures in days
Szczep nr 13 – Strain no 13
Szczep nr 14 - Strain no 14

Rys. 22. Wpływ czasu trwania hodowli szczepów nr 13 i nr 14: *A* — na rozpuszczanie trudno przyswajalnych fosforanów wapnia (150 mg w kolbce) w płynnych pożywkach Pikowskiej, *B* — na stopień zakwaszenia pożywki

Fig. 22. The effect of the incubation period of strains no. 13 and no. 14: *A* — upon the dissolving of hardly available calcium phosphates (150 mg in flask) in liquid media, *B* — upon the degree of culture medium acidifying



Rys. 23. Wpływ czasu trwania hodowli szczepów nr 13 i nr 14: *A* — na rozpuszczanie trudno przyswajalnych fosforanów wapnia (300 mg w kolbce) w płynnych pożywkach Pikowskiej, *B* — na stopień zakwaszenia pożywki

Fig. 23. The effect of the incubation period of strains no. 13 and no. 14: *A* — upon the dissolving of hard available calcium phosphates (300 mg in flask) in liquid media, *B* — upon the degree of culture medium acidifying

niach — a więc przy zastosowaniu mniejszej i większej dawki tych produktów. Zmniejszanie się ilości rozpuszczonych fosforanów w hodowlach następowało po osiągnięciu stężenia tego składnika w wysokości 33—41 mg P_2O_5 na 30 ml pożywki, czyli przy stężeniu 0,10—0,13% P_2O_5 (rys. 22, 23).

Wynikałoby z tego, że w warunkach przeprowadzonych doświadczeń o przebiegu rozpuszczania zastosowanych produktów fosforowych decydowały — obok innych czynników — nie tyle ich początkowe ilości w pożywce, co stężenie w niej rozpuszczonych fosforanów. Stwierdzenie tego faktu wyjaśnia w pewnej mierze, dlaczego przebieg tego procesu zmieniał się zależnie od aktywności badanych szczepów, oraz od rodzaju użytych źródeł fosforu.

2. Uwalnianie fosforu z fosforytu i z fosforanu trójwapniowego przez badane szczepy w podłożach glebowych

W celu poznania, jaka jest zdolność rozpuszczania trudno przyswajalnych fosforanów przez szczepy nr 13 i nr 14 w glebie — przeprowadzono dwa dalsze doświadczenia.

a) Doświadczenie z piaskiem gliniastym i z torfem. W doświadczeniu tym zamierzano zbadać, w jakim stopniu zastosowane szczepy są w stanie rozkładać fosforyt krajowy w glebach o różnej zawartości substancji organicznej. Wykonano je w erlenmajerkach o poj. 300 ml, które napełniono 100 g piasku gliniastego (o wilgotności 1%) lub 40 g torfu niskiego (o wilgotności 45%).

Schemat doświadczenia był następujący:

Lp.	Kombinacje	Serie		
1	Piasek gliniasty sterylizowany			
2	Piasek gliniasty niesterylizowany	nieszczepiona (kontrola)	szczep nr 13	szczep nr 14
3	Piasek gliniasty niesterylizowany + fosforyt			
4	Torf			
5	Torf + fosforyt			

Azot zastosowano tu jako KNO_3 i NH_4NO_3, dawki potasu — jako KNO_3. W przeliczeniu na 1 kg dodano do piasku gliniastego 55 mg N i 67 mg K_2O, do torfu — 36 mg N i 120 mg K_2O. Wysokość tych dawek była zbliżona do tych, które stosuje się w doświadczeniach wazonowych.

Fosfor zastosowano w postaci mączki fosforytowej o zawartości 14,4% P_2O_5 ogólnego. Ilość tego składnika w tej postaci wynosiła w kolbce ze 100 g piasku gliniastego 216 mg P_2O_5, — w kolbce z 40 g torfu — 86 mg P_2O_5.

Tabela 9

Wpływ szczepienia szczepami nr 13 i nr 14 na uruchamianie fosforu z mączki fosforytowej w piasku gliniastym i w torfie
Doświadczenie laboratoryjne

The effect of inoculation with strains no 13 and no. 14 upon phosphorus releasing out of phosphorite meal in loamy sand and in peat. Laboratory experiment

L.p. O.n.	Gleba Soil	Terminy analiz Analysis dates	Ilość przyswajalnego P_2O_5 mg w 100 g s. m. gleby Amount of available P_2O_5 mg per 100 g of soil dry mass		
			gleba nieszczepiona Control	szczepy bakterii „fosforowych" „phosphorus" bacteria strains	
				nr 13 no. 13	nr 14 no. 14
1	Piasek gliniasty sterylizowany Sterilized loamy sand	na początku at the beginning	nie oznaczono not determined		
		po 27 dniach after 27 days	1,88	2,80	2,80
		po 88 dniach after 88 days	1,03	1,25	1,67
2	Piasek gliniasty niesterylizowany Not sterilized loamy sand	na początku at the beginning	0,82		
		po 27 dniach after 27 days	0,92	1,40	2,32
		po 88 dniach after 88 days	1,67	1,67	1,87
3	Piasek gliniasty niesterylizowany z dodatkiem fosforytu Not sterilized loamy sand with added phosphorite	na początku at the beginning	26,38		
		po 27 dniach after 27 days	27,68	27,25	27,41
		po 88 dniach after 88 days	25,22	26,79	28,19
4	Torf Peat	na początku at the beginning	14,96		
		po 27 dniach after 27 days	16,08	17,55	18,99
		po 88 dniach after 88 days	15,95	16,15	16,15
5	Torf z dadatkiem fosforytu Peat with added phosphorite	na początku at the beginning	65,73		
		po 27 dniach after 27 days	52,89	52,07	52,07
		po 88 dniach after 88 days	51,65	50,85	53,35

Do każdej kolbki z glebą wprowadzono w seriach szczepionych po 10 ml zawiesiny bakteryjnej szczepów nr 13 i nr 14.

Wilgotność piasku gliniastego utrzymywano w czasie trwania doświadczenia na poziomie 60%, torfu — 65% maksymalnego nasycenia pojemności wodnej. Doświadczenie prowadzono przez 135 dni w temp. 30°.

Ilości przyswajalnego fosforu i odczyn gleb oznaczano na początku doświadczenia, po 27 i 88 dniach. Zawartość przyswajalnego fosforu w tych glebach określono metodą Egnera [1], ich odczyn — potencjometrycznie w KCl.

Jak widać z tab. 9, fosforyt nie był rozpuszczany przez zastosowanie szczepionki, czasem — w nieznacznym stopniu. W piasku gliniastym z dodatkiem fosforytu notowano zwiększenie się ilości przyswajalnego fosforu, pod wpływem szczepienia tymi bakteriami, od 5—10% i to dopiero

Tabela 10

Ogólna ilość bakterii i promieniowców w milionach na 1 g s. m. torfu po 120 dniach kompostowania

Total number of bacteria and actinomycetes, milions per 1 g of peat dry mass, after 120 fermentation days

L.p. O.n.	Kombinacje Combinations	Ogólna ilość bakterii i promieniowców Total number of bacteria and actinomycetes	Bakterie Bacteria		Promieniowce Actinomycetes	
			ilość number	%	ilość number	%
1	Torf — na początku doświadczenia Peat — at the beginning	7,2	4,8	67	2,4	33
2	Torf nieszczepiony Uninoculated peat	14,6	1,0	7	13,6	93
3	Torf + szczep nr 13 Peat + strain no. 13	14,0	0,9	7	13,1	93
4	Torf + szczep nr 14 Peat + strain no. 14	13,6	0,9	7	12,7	93
5	Torf z fosforytem nieszczepiony Uninoculated peat with phosphorite	11,8	0,6	5	11,2	95
6	Torf z fosforytem + szczep nr 13 Peat with phosphorite + strain no. 13	15,1	0,8	5	14,3	95
7	Torf z fosforytem + szczep nr 14 Peat with phosphorite + strain no. 14	16,0	1,0	6	15,0	94

[1] Zawartość przyswajalnego fosforu znaleziona przy pomocy metody Egnera była w torfie z fosforytem, sądząc z ilości dodanego fosforytu do tej gleby wyższa od rzeczywistej (tab. 9). Otrzymane liczby dla tych kombinacji miałyby więc tylko wartość porównawczą.

po 3 miesiącach. W torfie w tych samych warunkach stosowanie szczepionek nie dało spodziewanych wyników. Ilości przyswajalnego fosforu były w tej glebie nawet mniejsze po miesiącu i 3 miesiącach, w porównaniu z jego zawartością w tym podłożu na początku doświadczenia (tab. 9). Przypuszczalnie grały tu rolę sorpcyjne właściwości torfu.

Poza tym fosfor mógł być pobierany przez silnie rozwijające się promieniowce, na co wskazywałyby wyniki analizy mikrobiologicznej torfu, wykonanej po 120 dniach doświadczenia (tab. 10).

Szczepienie i kompostowanie mączki fosforytowej z piaskiem gliniastym lub torfem nie wpłynęło przy tym na zmianę odczynu tych gleb.

b) Doświadczenie z piaskiem kwarcowym lub torfem. W doświadczeniu tym usiłowano wyjaśnić, dlaczego proces rozpuszczania fosforanów wapnia przebiega w podłożu glebowym powoli, lub nawet wcale się nie przejawia, oraz jaki wpływ ma na ten proces dodatek węglowodanu do gleby.

W tym celu piasek kwarcowy (o wilgotności 0,1%) lub torf (o wilgotności 52%) zmieszano z nieco zmodyfikowaną pożywką Pikowskiej, przy czym na każdy litr tych podłoży dano następującą ilość składników: $(NH_4)_2SO_4$ — 0,5 g, glikozy — 20,0 g, NaCl — 0,2 g, $MgSO_4$ — 0,1 g, $FeSO_4$ — 2,0 mg, $MnSO_4$ — 2,0 mg, $Ca_3(PO_4)_2$ — lub fosforytu — 5,0 g.

Erlenmajerki poj. 300 ml napełniano 140 g piasku kwarcowego lub 65 g torfu. Jedną serię gleb wyjaławiano dwukrotnie pod ciśnieniem 1,5—2 atm. w przeciągu 2 godzin, drugiej użyto w stanie świeżym.

Schemat doświadczenia

L.p.	Kombinacje	Serie	
1	Piasek kwarcowy lub torf + glikoza + $Ca_3(PO_4)_2$	nieszczepiona	
		szczepiona nr 14	
2	Piasek kwarcowy lub torf + $Ca_3(PO_4)_2$	nieszczepiona	
		szczepiona nr 14	sterylizowana
3	Piasek kwarcowy lub torf + glikoza + fosforyt	nieszczepiona	niesterylizowana
		szczepiona nr 14	
4	Piasek kwarcowy lub torf + fosforyt	nieszczepiona	
		szczepiona nr 14	

W doświadczeniu tym zastosowano tylko szczep nr 14 jako specjalnie aktywny. Każdą kolbkę z glebą zakażono w seriach szczepionych 10 ml zawiesiny bakteryjnej, przy czym 1 ml tej zawiesiny zawierał około 36 milionów komórek.

Wilgotność piasku i torfu doprowadzono na początku doświadczenia do poziomu 70% nasycenia maksymalnej pojemności wodnej. Pod koniec trwania doświadczenia, tj. po 74 dniach zawartość wilgoci obniżyła się w piasku do 35% i w torfie do 52% pojemności wodnej.

Po 5, 13, 39, 74 dniach oznaczano w tych kompostach ilości rozpuszczalnego w wodzie fosforu [1], ich odczyn, oraz zawarte w nich ogólne ilości bakterii i promieniowców. Wyniki zebrano w tab. 11 i 12.

c. Piasek kwarcowy. W obecności glikozy nastąpiło w piasku kwarcowym z fosforanem trójwapniowym, pod wpływem szczepienia, parokrotne zwiększenie się ilości przyswajalnego fosforu (tab. 11). W serii niesterylizowanej trzecia część uruchomionego fosforu uległa w późniejszym czasie kompostowania uwstecznieniu, prawdopodobnie wskutek jego asymilacji przez silnie rozwijające się drobnoustroje. Uruchomienie fosforu z fosforytu było w tych samych warunkach nieznaczne. Bez dodatku glikozy działanie szczepu nr 14 nie przejawiło się.

W piasku kwarcowym z glikozą, w serii niesterylizowanej, odczyn tego podłoża pozostał zbliżony do obojętnego. Mimo to w serii tej zaznaczyło się pod wpływem szczepu nr 14 silne rozpuszczanie fosforanu trójwapniowego. Natomiast w sterylizowanym piasku z glikozą odczyn zmienił się na kwaśny (tab. 11). Wynikałoby z tego, że w świeżym piasku na produkty przemiany glikozy (kwasy) oddziaływały obok szczepionki — rodzime drobnoustroje gleby.

Szczep nr 14, sądząc z ilości jego komórek znalezionych w szczepionym piasku sterylizowanym, mógł się dobrze rozwijać w tym podłożu, przy czym rozwój jego przy dodatku fosforanu trójwapniowego był silniejszy, niż na fosforycie.

d. Torf. W torfie niesterylizowanym z dodatkiem fosforanu trójwapniowego lub mączki fosforytowej działanie szczepu nr 14 nie przejawiło się nawet w obecności glikozy; w serii sterylizowanej było ono też słabe (tab. 12). Właściwości sorpcyjne tego podłoża i silne rozmnażanie się mikroflory zacierały zapewne wyniki procesu rozpuszczania fosforanów wapnia. Na sorpcję fosforu przez torf wskazywałoby obniżenie się początkowej ilości rozpuszczonego fosforu w niesterylizowanej serii z fosforanem trójwapniowym po 5 dniach hodowli, z około 15 do 6 mg P_2O_5 w 100 g s. m. tego podłoża.

Odczyn torfu niesterylizowanego nie zmienił się ani pod wpływem szczepienia szczepem nr 14 ani w wyniku dodatku glikozy. Natomiast w torfie sterylizowanym pod wpływem bardzo silnie rozmnażającego się szczepu nr 14, jako monokultury, odczyn tego podłoża przesunął się w kierunku obojętnym, w porównaniu z kontrolą (tab. 12).

W niesterylizowanym torfie z fosforanem trójwapniowym lub fosforytem zaszczepionym szczepem nr 14, liczebność drobnoustrojów, których bliżej nie rozpoznano, była na ogół o wiele mniejsza, niż w serii nieszczepionej. Świadczyłoby to o antagonizmie w tych seriach pomiędzy mikroflorą autochtoniczną a wprowadzoną szczepionką.

[1] Zawartość fosforu rozpuszczonego w wodzie określono tu przy pomocy metody kolorymetrycznej, stosując wodę destylowaną jako płyn ekstrakcyjny.

Tabela 11

Wpływ szczepienia szczepem nr 14 na uruchamianie fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów wapnia w piasku kwarcowym w zależności od dodatku glikozy. Doświadczenie laboratoryjne

The effect of inoculation with strain no. 14 upon phosphorus releasing out of hardly available calcium phosphates in sand subject to addition of glucose. Laboratory experiment

L. p. O. n.	Podłoże i nawożenie Medium and fertilizing	Szczep Strain	Analiza — po 5 dniach Analysis — after 5 days			Analiza — po 13 dniach Analysis — after 13 days			Analiza — po 39 dniach Analysis — after 39 days			Analiza — po 74 dniach Analysis — after 74 days		
			ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass
			Seria niesterylizowana Not sterilized series											
1	Piasek + glikoza + $Ca_3(PO_4)_2$	0	19,82	5,6	27	14,18	6,5	116 (prócz tego pleśnie moreover fungi)	17,82	6,4	pleśnie fungi	23,41	6,3	pleśnie fungi
	Sand + glucose + $Ca_3(PO_4)_2$	szczep nr 14 strain no. 14	61,00	6,8	30 240	43,23	7,1	36 900	38,54	6,9	pleśnie fungi	43,87	6,9	3900

		0	16,00	6,5	0,4	15,27	6,4	1,5	17,82	6,4	4,4	20,49	6,2	0,52
2	Piasek + $Ca_3(PO_4)_2$ San + $Ca_3(PO_4)_2$	szczep nr 14 strain no. 14	16,00	6,7	32	16,00	6,5	119	18,54	6,5	40	23,41	6,4	<0,10
		0	6,66	5,3	pleśnie[2] fungi	6,0	5,2	pleśnie fungi	7,67	5,7	pleśnie fungi	7,33	6,3	pleśnie fungi
3	Piasek + glikoza + fosforyt Sand + glucose + phosphorite	szczep nr 14 strain no. 14	7,33	4,7	212 (prócz tego pleśnie moreover fungi)	6,00	6,4	pleśnie fungi	10,00	6,4	3630	9,83	6,5	pleśnie fungi
		0	6,00	6,8	0,9	5,83	6,7	0,5	8,00	6,3	0,5	7,66	5,9	<0,1
4	Piasek + fosforyt Sand + phosphorite	szczep nr 14 strain no. 14	6,66	6,8	1,0	6,50	6,6	0,6	8,00	6,4	0,15	7,16	5,9	0,4
		Seria sterylizowana[1] Sterilized series[1]												
		0	22,44	6,1	0	20,97	6,0	0	18,54	6,1	0	19,76	6,0	0
1	Piasek + glikoza + $Ca_3(PO_4)_2$ Sand + glucose + $Ca_3(PO_4)_2$	szczep nr 14 strain no. 14	82,00	4,2	16	75,50	4,7	2871	84,00	4,7	560	65,50	6,9	12280

Tabela 11 c. d.

L. p. O. n	Podłoże i nawożenie Medium and fertilizing	Szczep Strain	Analiza — po 5 dniach Analysis — after 5 days			Analiza — po 13 dniach Analysis — after 13 days			Analiza — po 39 dniach Analysis — after 39 days			Analiza — po 74 dniach Analysis — after 74 days	
			ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. piasku amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of sand dry mass	pH piasku pH of sand	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass
2	Piasek + $Ca_3(PO_4)_2$ Sand + $Ca_3(PO_2)_4$	0	20,49	6,4	0	21,46	6,4	0	17,45	6,4	0	18,73	6,2	0
		szczep nr 14 strain no. 14	20,00	6,6	51	17,45	6,3	256	17,09	6,4	284	18,91	6,2	86
3	Piasek + glikoza + fosforyt Sand + glucose + phosphorite	0	9,33	6,3	0	7,33	6,2	0	9,33	6,4	0	9,33	6,2	0
		szczep nr 14 strain no. 14	10,33	4,9	6	10,16	4,7	4	11,33	4,6	<0,1	11,00	4,4	0,002

		0	7,33	6,4	0	7,00	6,4	0	7,33	6,5	0	7,66	6,2	0
4	Piasek + fosforyt Sand + phosphorite	szczep nr 14 strain no. 14	8,16	6,6	64	6,33	6,3	467	7,67	6,4	97	7,33	6,3	73

[1] W serii niesterylizowanej cyfry oznaczają pełny zespół mikroflory po wprowadzeniu szczepionki, w serii steryzowanej — ilości komórek szczepu nr 14.

[1] The data indicate the total group of microflora together with introduced bacteria in unsterilized series and the number of cells of strain no. 14 in sterilized series.

[2] Na piasku niesterylizowanym z glikozą rozwinęły się pleśnie, co utrudniało lub uniemożliwiało określenie ilości bakterii w tych kombinacjach.

[2] The grown up fungi in unsterilized sand with glucose made difficult or impossible to determine the number of bacteria in these combinations.

Tabela 12

Wpływ szczepienia szczepem nr 14 na uruchamianie fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów wapnia w torfie w zależności od dodatku glikozy. Doświadczenie laboratoryjne

The effect of inoculation with strain no. 14 upon phosphorus releasing out of hard available calcium phosphates in peat subject to addition of glucose. Laboratory experiment

L. p. O. n.	Podłoże i nawożenie Medium and fertilizing	Szczep Strain	Analiza — po 5 dniach Analysis — after 5 days			Analiza — po 13 dniach Analysis — after 13 days			Analiza — po 39 dniach Analysis — after 39 days			Analiza — po 74 dniach Analysis — after 74 days		
			ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu pH of peat	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu pH of peat	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu pH of peat	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu pH of peat	ogólna ilość[1] bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass
			Seria niesterylizowana[1] Not sterilized series[1]											
1	Torf[2] + glikoza + $Ca_3(PO_4)_2$ Peat[2] + glucose + $Ca_3(PO_4)_2$	0	6,33	6,0	6480	10,33	6,0	3400[3] (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	8,00	5,8	225 (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	7,0	5,8	416

		szczep nr 14 strain no. 14	6,00	6,1	275 (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	9,83	5,9	6950 (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	8,33	6,0	2900	8,33	5,9	4610
2	Torf + $Ca_3(PO_4)_2$ Peat + $Ca_3(PO_4)_2$	0	6,00	5,9	694	10,66	5,7	7410	11,00	5,7	311	8,66	5,7	196
		szczep nr 14 strain no. 14	7,00	5,8	65	10,83	5,7	372	9,33	6,0	177	8,66	5,8	282
3	Torf + glikoza + fosforyt Peat + glucose + phosphorite	0	4,33	6,0	3540	6,49	5,9	7410 (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	5,00	5,8	1420 (prócz tego pleśnie) (moreover fungi)	6,00	5,8	2500
		szczep nr 14 strain no. 14	5,33	6,0	15380	5,33	5,8	53800	5,33	6,2	27400	7,00	5,9	15200
4	Torf + fosforyt Peat + phosphorite	0	4,16	6,0	357	6,33	5,8	2840	5,50	6,0	271	7,16	5,8	341
		szczep nr 14 strain no. 14	5,00	6,0	250	5,00	5,7	508	5,33	5,9	47	7,66	5,8	50

Tabela 12 c.d.

L. p. / O. n.	Podłoże i nawożenie Medium and fertilizing	Szczep Strain	Analiza — po 5 dniach Analysis — after 5 days			Analiza — po 13 dniach Analysis — after 13 days			Analiza — po 39 dniach Analysis — after 39 days			Analiza — po 74 dniach Analysis — after 74 days		
			ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu / amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu / pH of peat	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu / total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu / amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu / pH of peat	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu / total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu / amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu / pH of peat	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu / total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass	ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s. m. torfu / amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of peat dry mass	pH torfu / pH of peat	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. torfu / total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of peat dry mass
			Seria sterylizowana / Sterilized series											
1	Torf + glikoza + $Ca_3(PO_4)_2$ / Peat + glucose + $Ca_3(PO_4)_2$	0	10,66	5,1	0	10,33	5,0	0	10,33	5,2	0	11,33	5,1	>0,001
		szczep nr 14 strain no. 14	13,82	5,6	$>10^5$	14,91	5,5	$>10^5$	12,00	5,8	$>10^5$	14,72	5,7	$>10^6$
2	Torf + $Ca_3(PO_4)_2$ / Peat + $Ca_3(PO_4)_2$	0	7,33	5,5	0	9,83	5,4	0	8,66	5,4	0	11,00	5,4	<0,000001
		szczep nr 14 strain no. 14	9,00	5,8	$>10^4$	9,33	5,7	$>10^4$	10,66	5,8	$>10^4$	9,00	5,7	$>10^4$

3	Torf + glikoza + fosforyt	0	8,33	5,3	0	9,00	5,1	0	8,33	5,3	0	10,66	5,3	0
	Peat + glucose + phosphorite	szczep nr 14 strain no. 14	9,00	5,8	$>10^5$	10,00	5,7	$>10^5$	10,00	5,8	$>10^5$	13,82	5,8	$>10^6$
4	Torf + fosforyt	0	6,33	5,5	0	8,33	5,4	0	8,66	5,5	0	10,66	5,4	0
	Peat + phosphorite	szczep nr 14 strain no. 14	10,00	5,9	$>10^4$	9,00	5,7	$>10^4$	10,33	5,8	$>10^4$	11,00	5,7	$>10^4$

[1] W serii niesterylizowanej cyfry oznaczają pełny zespół mikroflory po wprowadzeniu szczepionki, w serii sterylizowanej — ilości komórek szczepu nr 14

[2] Na początku znaleziono w 100 g s. m. tej próbki 14,91 mg P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie

[3] W torfie niesterylizowanym z glikozą rozwinęły się duże ilości pleśni, które utrudniały lub uniemożliwiały określenie ilości bakterii w tych kombinacjach

[1] The ciphers indicate total group of microflora together with introduced bacteria in unsterilized series and the number of cells of strain no. 14 in sterilized series

[2] At the beginning of experiment was found 14,91 mg dissolved in water P_2O_5 per 100 g of peat dry mass

[3] The grown up fungi in unsterilized peat with glucose made difficult or impossible to determine the number of bacteria in these combinations

3. Uwalnianie fosforu z fosforytu przez szczepy nr 13 i nr 14 w torfie lub piasku z dodatkiem obornika

W badaniach nad bakteriami uruchamiającymi trudno przyswajalne fosforany Bieriozowa i współpracownicy (1956), a także Uarowa (1956) stosowały komposty torfowo-fosforytowe z dodatkiem 25% obornika. Bieriozowa podaje, że przyrost ilości przyswajalnego fosforu, pod wpływem szczepienia bakteriami „fosforowymi", wynosił w tych kompostach do 20%, w porównaniu z serią nieszczepioną, a w jednym wypadku, już po 20 dniach do 72%.

Zachęciło nas to do wykonania podobnych doświadczeń w skali laboratoryjnej, przy czym obok kompostów torfowych z dodatkiem 1-rocznego lub 3-letniego obornika i mączki fosforytowej przygotowano dla porównania komposty z piaskiem, które mieszano z wymienionymi składnikami.

Schemat doświadczenia

L.p.	Kombinacje	Serie	
1	Torf niski + 1/4 trzyletniego obornika (objętościowo) + 2% fosforytu	nieszczepiona	szczepiona szczepem nr 14
2	Torf niski + 1/4 jednorocznego obornika + 2% fosforytu		
3	Piasek kwarcowy + 1/4 trzyletniego obornika + 2% fosforytu		
4	Piasek kwarcowy + 1/4 jednorocznego obornika + 2% fosforytu		

Stosując szczepionkę zakażano 1 kg kompostu torfowego lub 2 kg kompostu z piaskiem kwarcowym 20 ml wodnej zawiesiny szczepu nr 14, przy czym 1 ml tej zawiesiny zawierał 72 miliony komórek. Na 1 g tych kompostów wprowadzono po 0,7—1,4 milionów komórek bakterii. Zbliżone ilości komórek bakterii „fosforowych" wprowadzała do kompostów w swoich badaniach Uarowa (1956).

Krystalizatory o średnicy 11 cm napełniano 0,24 kg torfu z obornikiem lub 0,5 kg piasku kwarcowego z obornikiem.

Wilgotność tych podłoży utrzymywano na poziomie około 70% maksymalnej pojemności wodnej. Kompostowanie prowadzono w temperaturze pokojowej.

Zawartość fosforu rozpuszczalnego w wodzie określano w podłożach po 10, 18 i 46 dniach kompostowania.

Jak wynika z przytoczonych danych (tab. 13), szczepienie szczepem nr 14 nie spowodowało w ciągu tego czasu w przygotowanych kompostach przyrostu ilości rozpuszczalnego w wodzie fosforu, a w kompostach szczepionych, z dodatkiem 3-letniego obornika zaznaczył się nawet jego

Tabela 13

Wpływ szczepienia szczepem nr 14 na uruchamianie fosforu z mączki fosforytowej w warunkach jej kompostowania z torfem lub piaskiem w obecności obornika. Doświadczenie laboratoryjne

The effect of inoculation with the strain no. 14 upon phosphorus releasing out of phosphorite meal in compost consisting of peat or sand and manure. Laboratory experiment

L.p. O.n.	Podłoże i nawożenie Medium and manuring	Szczep Strain	Ilość P_2O_5 rozpuszczonego w wodzie mg w 100 g s.m. gleby Amount of dissolved in water P_2O_5 mg per 100 g of soil dry mass			
			na początku at the beginning	dzień kompostowania day of fermentation		
				10	18	46
1	Torf + 3 letni obornik + fosforyt Peat + three-year old manure + phosphorite	nieszczepiona uninoculated	27,80	15,32	18,66	18,00
		szczepiona inoculated	—	15,32	20,00	—
2	Torf + 1 roczny obornik + fosforyt Peat + one-year old manure + phosphorite	nieszczepiona uninoculated	31,71	20,00	24,00	23,32
		szczepiona inoculated	—	22,00	19,32	18,66
3	Piasek + 3 letni obornik + fosforyt Sand + three-year old manure + phosphorite	nieszczepiona uninoculated	23,41	21,66	28,36	25,46
		szczepiona inoculated	—	21,32	25,46	25,46
4	Piasek + 1 roczny obornik + fosforyt Sand + one-year old manure + phosphorite	nieszczepiona uninoculated	33,66	29,80	34,90	32,72
		szczepiona inoculated	—	28,36	29,80	28,36

ubytek (o około 10%). Zmniejszenie się ilości rozpuszczalnego w wodzie fosforu po 10 dniach w kompostach torfowych (około 35%), w porównaniu z jego ilościami na początku, było prawdopodobnie wynikiem sorpcji tego składnika przez torf. Również w kompostach z piaskiem ilość rozpuszczalnego w wodzie fosforu była mniejsza po 10 dniach (o około 10%), niż na początku. W piasku z obornikiem mogła zachodzić asymilacja rozpuszczalnego fosforu przez drobnoustroje, które zapewne miały w obecności nawozu organicznego dobre warunki rozwoju. Są to jednak tylko przypuszczenia, wymagające potwierdzenia doświadczalnego.

Omówienie wyników badań nad właściwościami morfologicznymi i fizjologicznymi drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia

Jak już wspomniano, z piasku gliniastego i z rizosfery łubinu, owsa i ziemniaka, wyodrębniono 23 szczepy bakterii i 10 szczepów grzybów, rozpuszczających fosforany wapnia.

Wśród bakterii wyróżniono rozwijające się w warunkach tlenowych, nie przetrwalnikujące pałeczki i gatunki podobne do dyfteroidów (fot. rys. 6—9). Wśród grzybów rozróżniono 2 rodzaje: rodzaj *Penicillium* i *Rhodotorula* (fot. rys. 12, 13).

Rozpuszczanie fosforanów wapnia przez badane szczepy spowodowane było głównie wytwarzaniem przez nie kwasów w obecności łatwo fermentujących związków węgla (tab. 2). Najsilniejsze działanie rozpuszczające obserwowano na pożywce z glikozą, słabsze w obecności mannitolu. W pożywkach z octanem lub z cytrynianem sodu nie stwierdzono w ogóle rozpuszczania fosforanu trójwapniowego. W laboratoryjnych warunkach hodowli bakterie zakwaszały pożywki do pH 3—4, grzyby — do pH poniżej 3 (tab. 3). Kwasy nie były jednak jedynym czynnikiem rozpuszczania fosforanów wapnia. Potwierdzają to m. in. obserwacje rozpuszczania tych związków przez szczep nr 13 lub szczep nr 14 w pożywce z cytrynianem wapnia, w której przez cały czas hodowli utrzymywał się słabo alkaliczny odczyn (tab. 7, fot. rys. 16, 17). Należy przypuszczać, że uruchamianie fosforu następowało w tym wypadku w wyniku reakcji między różnymi metabolitami szczepów nr 13 i nr 14, a fosforanami wapnia. Wyjaśnienie tego zjawiska wymagałoby jednak oddzielnych badań.

Spośród wyodrębnionych bakterii najsilniej rozpuszczały fosforany wapnia organizmy rozkładające związki białkowe (tab. 4). Ich zdolność do rozpuszczania tych związków tłumaczyłyby w pewnej mierze wyniki badań Struthersa (1950), który stwierdził, że aminokwasy mogą wchodzić w reakcje z fosforanami wapnia.

Spośród grzybów *Penicillia* energiczniej rozpuszczały fosforany wapnia, niż *Rhodotorulae*, co zapewne było spowodowane większą ich zdolnością do zakwaszania podłoży, w porównaniu z tymi ostatnimi (tab. 3).

Badając warunki uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów przez wybrane 2 szczepy bakterii — szczep nr 13 z rodzaju *Pseudomonas* i szczep nr 14 z rodzaju *Achromobacter* — posługiwano się nie tylko podłożami syntetycznymi, ale i glebowymi.

Stwierdzono przy tym, że szczep nr 14 zakwasza silniej i w krótszym czasie pożywki cukrowe niż szczep nr 13, w porównaniu z tym ostatnim wytwarza on w większej ilości kwasy z różnych cukrów, co wskazywało-

by na odmienny aparat enzymatyczny hydrolizujący węglowodany u obu badanych bakterii (tab. 7 ,rys. 22, 23).

Stopień rozpuszczania fosforanu trójwapniowego pod wpływem tych bakterii zależał nie tylko od związków węgla ale i azotu. Przejawiał się on np. silniej w obecności tyrozyny i waliny, słabiej w obecności mocznika i glicyny (tab. 6).

Badane szczepy były uzdolnione do rozpuszczania, obok „czystego" fosforanu trójwapniowego także mączki kostnej. Rozpuszczanie krajowego fosforytu w pożywkach syntetycznych notowano tylko w hodowlach ze szczepem nr 14. Mniej aktywny szczep nr 13 nie rozpuszczał w tych warunkach tego produktu fosforowego (rys. 22 i 23).

W przeprowadzonych przez nas badaniach obserwowano uwstecznianie się uruchomionego fosforu. Na proces ten zwracał już uwagę Gerretsen (1948). Uwstecznianie zaznaczało się m. in. w hodowlach płynnych szczepu nr 14 z fosforanem trójwapniowym lub z mączką kostną wtedy, gdy stężenie rozpuszczonych fosforanów wynosiło w tym środowisku około 0,1% P_2O_5 (rys. 22,23).

Rozpuszczanie trudno przyswajalnych fosforanów w podłożach glebowych przez aktywny szczep nr 14 było słabe, lub może się nie ujawniło (tab. 9, 11, 12, 13). Przyczyny tego zjawiska mogły być m. in. następujące: a) sorpcja biologiczna fosforanów przez mnożące się drobnoustroje glebowe i wprowadzone ze szczepionką, b) właściwości sorpcyjne torfu, c) strącanie się fosforanów wapnia bezpośrednio po ich rozpuszczeniu.

B. WYSTĘPOWANIE DROBNOUSTROJÓW URUCHAMIAJĄCYCH FOSFORANY I ORGANICZNE POŁĄCZENIA FOSFOROWE W RIZOSFERZE ROŚLIN

W tej części pracy starano się poznać, jak licznie występują drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia w rizosferze różnych roślin uprawnych.

W zespołach mikroflory oznaczano również ilości drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu, które również mogą mieć wpływ na udostępnianie fosforu roślinom. Obserwowano przy tym zmiany w składzie zespołów drobnoustrojów „fosforowych" w rizosferze różnych roślin zależnie od okresu ich rozwoju.

Materiał doświadczalny

Badania nad występowaniem drobnoustrojów „fosforowych" na korzeniach roślin uprawnych przeprowadzono w latach 1955 i 1956 z następującymi roślinami: jęczmień, owies, len, gryka, ziemniak, łubin i groch.

W roku 1955 rośliny przeznaczone do badań uprawiano na mikropoletkach o powierzchni 1 m^2, na piasku gliniastym. Przedplonem w roku 1955 były ziemniaki na oborniku (2 kg/m^2). Pod rośliny zastosowano potas

Tabela 14

Wykaz stanu rozwoju roślin podczas oznaczania liczebności mikroflory na ich korzeniach
Plant development state during determining the number of rhizosphere microflora

Rok 1955 — The year 1955

Terminy analiz Analysis dates / Rośliny — Plant	1. VI 18 dzień wegetacji 18-th vegetation day	16. VI 33 dzień wegetacji 33-th vegetation day	29. VI 46 dzień wegetacji 46-th vegetation day	18. V I 65 dzień wegetacji 65-th veg-tation day	9. VIII 86 dzień wegetacji 86-th vegetation day
	Fazy rozwoju roślin — Vegetation per'ods				
Jęczmień Barley	2—3 listki 2—3 leaves	krzewienie tillering	strzelanie w źdźbło stalk development	dojrzałość mleczna seed milk stage	
Owies Oats	2—3 listki 2—3 leaves	krzewienie tillering	strzelanie w źdźbło stalk development		
Len Flax	2—3 listki 2—3 leaves	10 par listków 10 pairs of leaves	15 par liści 15 pairs of leaves		
Gryka Buckwheat	2—3 listki 2—3 leaves	3 piętra 3 stories	3 piętra — kwitnienie 3 stories — blooming	kwitnienie lub początek kwitnienia	dojrzewanie ripening
Ziemniak Potatoes	2—3 listki 2—3 leaves	nie określono not determined	6 pięter 6 stories	blooming or beginning of blooming	
Łubin Lupine	2—3 listki 2—3 leaves	2—3 pary liści 2—3 pairs of leaves	4—5 par liści 4—5 pairs of leaves		
Groch Peas	4 pary liści 4 pairs of leaves	6 pięter 6 stories	7 pięter 7 stories		

Rok 1956 — The year 1956

Terminy analiz / Analysis dates Rośliny / Plant	4. VI 43 dzień wegetacji 43-rd vegetation day	26. VI 55 dzień wegetacji 55-th vegetation day	11. VII 70 dzień wegetacji 70-th vegetation day	20. VIII 110 dzień wegetacji 110-th vegetation day
	Fazy rozwoju roślin — Vegetation periods			
Jęczmień Barley	początek strzelania w źdźbło beginning of stalk development	strzelanie w źdźbło stalk development	dojrzałość mleczna seed milk stage	
Owies Oats	początek strzelania w źdźbło beginning of stalk development	strzelanie w źdźbło stalk development	kłoszenie heading	
Len Flax	18 par listków 18 pairs of leaves	27 par listków 27 pairs of leaves	kwitnienie blooming	
Gryka Buckwheat	4—5 pięter — kwitnienie 4—5 stories — blooming	4—5 pięter — kwitnienie 4—5 stories — blooming	zawiązywanie nasion seed forming	dojrzewanie ripening
Ziemniak Potatoes	zawiązywanie pąków bud stage	początek kwitnienia beginning of blooming	początek dojrzewania beginning of ripening	
Łubin Lupine	5 par liści 5 pairs of leaves	5 par liści 5 pairs of leaves	początek kwitnienia beginning of blooming	
Groch Peas	11 pięter 11 stories	początek kwitnienia beginning of blooming	kwitnienie blooming	

w postaci soli potasowej 40% — w ilości 10 g soli na m^2. Azot dano tylko pod ziemniaki po ich wschodach w postaci siarczanu amonu — w ilości 10 g tego związku na m^2.

Gęstość siewu roślin była następująca:

1. Jęczmień PZHR „Browarny" — 95 nasion na m^2
2. Owies „Udycz Biały" — 95 nasion na m^2
3. Len „Konkurent" — 174 nasion na m^2
4. Gryka (z Białegostoku) — 95 nasion na m^2
5. Ziemniaki (z ZNB Małszyn) — 9 bulw na m^2
6. Łubin żółty — 95 nasion na m^2
7. Groch „Victoria" — 95 nasion na m^2

Dwa poletka pozostały nie obsiane. Ilość równoległych poletek wynosiła 4—6. Łubin i groch zaszczepiono przed siewem bakteriami brodawkowymi. Rośliny zasiano 14 maja.

W podobnych warunkach powtórzono doświadczenie w roku 1956. Przedplonem w tym roku była pszenica „Opolska". Pod rośliny doświadczalne dano 40% sól potasową — w ilości 10 g soli na m^2. Azot zastosowano pogłównie w postaci saletrzaku w ilości 7 g tego nawozu na m^2 pod wszystkie rośliny, z wyjątkiem motylkowych. Pod ziemniaki azot dano w postaci siarczanu amonu. Każdą rośliną obsiano (2 maja) po 3 równoległe poletka.

Próbki korzeni do badań mikrobiologicznych pobrano z głębokości 5—25 cm. Prócz korzeni analizowano także próbki gleby z poletek nieobsianych, dla wykazania wpływu roślin na rozwój badanych drobnoustrojów.

W podanych (tab. 14) fazach wegetacyjnych wykonane analizy korzeni roślin przy pomocy metody ilościowo-jakościowej (patrz metodyka badań), oraz przy pomocy metody „kropelkowej". Część analiz korzni roślin, przy których stosowano metodę „kropelkową", wykonano 4—9 dni później. Terminy te zaznaczono w tabelach 18 i 19, przedstawiających wyniki tych badań.

Metodyka badań

Próbki korzeni poszczególnych roślin przygotowywano do badań w sposób następujący: z każdego poletka obsianego tą samą rośliną pobierano korzenie 1—15 roślin, zależnie od stopnia ich rozwoju. Z pobranych korzeni wraz z glebą do nich przyległą odważano średnie próbki o wadze 1—5 g. Z kolei korzenie te cięto i rozcierano w sterylizowanym moździerzu, po czym po 15 minutach wytrząsania roztartej masy korzeni w 100 ml sterylizowanej wody, przygotowywano z nich odpowiednie rozcieńczenia do posiewów.

W badaniach posługiwano się dwiema metodami: metodą ilościowo jakościową, opierając się na pracach Lochheada (1938) i Gołębiowskiej

(1957), oraz metodą „kropelkową" dostosowaną przez autora do badania zespołów mikroflory czynnej przy rozpuszczaniu fosforanu trójwapniowego.

Przy pomocy metody ilościowo jakościowej oznaczono:

1. Ogólną ilość bakterii i promieniowców. Grzybów nie określano.

2. Procentowy udział w całym zespole bakterii i promieniowców rozpuszczających trójwapniowy fosforan i mineralizujących organiczne związki fosforu (kwas nukleinowy, lecytynę, i glicerofosfat).

Przy pomocy metody „kropelkowej" oznaczano procentowy udział bakterii i promieniowców w naturalnych zespołach rozpuszczających fosforan trójwapniowy.

Metoda ilościowo jakościowa. Ogólną ilość bakterii i promieniowców oznaczano na płytkach z pożywką Gräfa, o następującym składzie: K_2HPO_4 — 0,5 g, mannitol — 10,0 g, agar — 14,0 g, wyciąg gleby — 1000 ml, pH pożywki — około 7. Ilość powtórzeń 3—6.

Po obliczeniu ilości kolonii, które wyrosły na płytkach, przeszczepiano z poszczególnych kombinacji z dowolnie obranego wycinka jednej lub dwóch płytek 25—40 kolonii do probówek, zawierających 3—5 ml półpłynnej pożywki o składzie: K_2HPO_4 — 0,2 g, ekstrakt drożdżowy — 0,1 g, agar — 3,0 g, woda destylowana — 1000 ml, pH pożywki — około 7.

Ponieważ wzrost drobnoustrojów był na tej pożywce słaby — stosowano ją tylko w pierwszych analizach. Dla stworzenia dogodniejszych warunków rozwoju drobnoustrojów — skład omawianej pożywki zmodyfikowano następująco: K_2HPO_4 — 0,2 g, wyciąg drożdżowy — 100 ml, wyciąg glebowy — 500 ml, agar — 3,0 g, woda destylowana — 400 ml, pH pożywki — około 7.

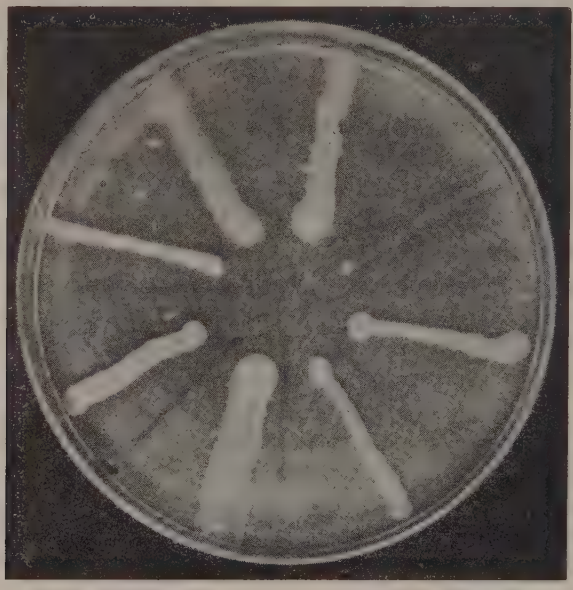
Hodowle z półpłynnych pożywek przeszczepiano następnie na agarową pożywkę z fosforanem trójwapniowym (pożywka Pikowskiej) i do pożywek płynnych z kwasem nukleinowym, glicerofosfatem lub lecytyną.

Na płytki agarowe z pożywką Pikowskiej, wysiewano po 6—8 szczepów, jak to przedstawiono na fot. rys. 24. Każdą płytkę zakażano także aktywnym szczepem nr 14, który — użyty jako wzorzec — pozwalał na przeprowadzenie wszystkich doświadczeń w jednakowych warunkach. Badane drobnoustroje podzielono na podstawie wielkości strefy rozpuszczania fosforanów wapnia na 3 grupy: silnie, średnio i słabo lub bardzo słabo rozpuszczające te związki. Ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia wyrażano w % wszystkich wyrosłych kolonii.

Skład pożywki płynnej z organicznymi związkami fosforu był następujący: mannitol — 5,0 g, asparagina — 0,5 g, fosfor organiczny — 0,05 g P_2O_5, $MgSO_4$ — 0,2 g, CaCl — 0,1 g, $NaCl_2$ — 0,1 g, wyciąg drożdżowy — 12,5 ml, wyciąg glebowy — 12,5 ml, woda destylowana — 975 ml. Fosfor

[1] Kwas nukleinowy drożdżowy (R N).

organiczny dawano do pożywki w postaci kwasu nukleinowego z drożdży (0,26 g, na litr pożywki), glicerofosfatu (2,5 g), lub lecytyny (0,97 g). Pożywki wyjaławiano przy pomocy trzykrotnej pasteryzacji, by nie wywołać w nich rozkładu związków organicznych fosforu. Przed sterylizacją pH pożywek wynosiło 7,1, po sterylizacji pH pożywki z lecytyną wynosiło około 7, pH pożywek z glicerofosfatem i kwasem nukleinowym 7,2—7,7.



Rys. 24. Sposób wysiewu szczepów z półpłynnej pożywki na agarową pożywkę Pikowskiej

Fig. 24. Way of strain transfer out of half-liquid culture medium on Pikowska agar culture medium

Hodowlę prowadzono w probówkach wielkości 160 × 16 mm, w które rozlewano po 3 ml pożywki.

Miarą zdolności badanych drobnoustrojów do mineralizowania organicznych związków fosforu były ilości rozpuszczonych fosforanów, które pojawiały się w pożywkach po 4 dniach hodowli w temp. 28—30°. Fosforany te oznaczano z pomocą orientacyjnej metody kolorymetrycznej i wyrażano w mg P_2O_5 na 1 litr pożywki. Zmiany odczynu pożywki pod wpływem hodowanych drobnoustrojów oznaczano metodą kolorymetryczną, posługując się błękitem bromotymolowym i skalą Clarka.

W zespołach drobnoustrojów wyodrębnionych z korzeni roślin wyróżniono następujące grupy drobnoustrojów:

mineralizujące tylko kwas nukleinowy,

mineralizujące tylko glicerofosfat,

mineralizujące kwas nukleinowy i glicerofosfat,
mineralizujące kwas nukleinowy, glicerofosfat i lecytynę.

Metoda kropelkowa polegała na tym, że mieszaninę wody i roztartych korzeni wraz z warstewką gleby do nich przyległą, lub samej gleby, rozcieńczoną 1 : 100 i 1 : 1000, wysiewano ezą lub kapilarą na powierzchnię agarowej pożywki Pikowskiej, umieszczając w równych odstępach po 25 kropel na płytce. Ilości zespołów mikroflory rozpuszczających fosforany wapnia obliczono na podstawie ilości kolonii, wokół których utworzyły się strefy rozpuszczania tych związków (fot. rys. 37—42). Liczebność ich wyrażano w procentach wszystkich wyrosłych kolonii. Dla dokładniejszego oznaczenia aktywności badanych drobnoustrojów określano także: a) Zbiorową powierzchnię stref rozpuszczania na płytkach. Ocenę tę wykonywano tylko orientacyjnie. b) Stopień przejaśnienia pożywki wokół kolonii, posługując się przy tym skalą: przejaśnienie bardzo słabe, słabe, średnie, silne. Zwracano także uwagę na cechy morfologiczne poszczególnych kolonii oraz na charakter całego wyodrębnionego zespołu kolonii drobnustrojów, ponadto na różnice morfologiczne szczepów, które należały do zespołów pochodzących z poszczególnych próbek korzeni lub gleby.

Ilość równoległych płytek dla analizowanych próbek wynosiła 3—4. Hodowle prowadzono przez 3—4 dni w temp. 28—30°.

Jako obiekty kontrolne wysiewano przy wykonywaniu wstępnej analizy sterylizowane mieszaniny korzeni z wodą, aby się przekonać czy kwasy już zawarte w wysiewanym materiale będą rozpuszczać fosforany wapnia. Stwierdzono jednak, że sterylizowane wodne zawiesiny roztartych korzeni nie wywołują zmian w podłożu.

Wyniki analiz mikrobiologicznych

W badaniach przeprowadzonych w latach 1955 i 1956 wykonywano w ciągu trwania wegetacji roślin 3—5 kolejnych analiz mikrobiologicznych. Wyniki przedstawiono w tabelach 15—19 oraz na rys. 31—34.

1. Ogólne ilości bakterii i promieniowców

Wyniki pierwszego roku badań (1955) przedstawiono w tab. 15. Jak widać z przytoczonych danych, ogólne ilości bakterii i promieniowców, bytujących na korzeniach, wzrastały na ogół w miarę rozwoju roślin, osiągając punkt szczytowy w okresie ich kwitnienia i dojrzewania. Widocznie obumierające korzenie stanowiły dobrą pożywkę dla badanych drobnoustrojów.

Ilości drobnoustrojów znalezione na korzeniach roślin motylkowych: łubinu i zwłaszcza grochu, szczególnie w starszym ich wieku, były znacznie wyższe, niż na korzeniach jęczmienia, owsa, lnu, gryki i ziemniaka.

Ilość drobnoustrojów „fosforowych" w rizosferze roślin

Number of „phosphorus" microorganisms in the rhizosphere

Investigations in

Lp. On.	Roślina Plant	Daty analiz Analysis dates	1. VI 18 dzień wegetacji 18-th vegetation day			16. VI 33 dzień wegetacji 33-th vegetation day		
			ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds
1	Jęczmień, Barley		63	16	nie oznaczono not examined	31	30	nie oznaczono not examined
2	Owies Oats		80	2		41	47	
3	Len Flax		251	35		62	56	
4	Gryka Buckwheat		19	24		21	40	
5	Ziemniak Potatoes		60	75		86	37	
6	Łubin Lupine		880	8		88	32	
7	Groch Peas		420	14		55	25	
8	Gleba nieobsiana Fallow		8	7		12	49	

Tabela 15

uprawnych w różnych okresach ich wegetacji. Badania w roku 1955

of crop plants in their different vegetation periods
the year 1955

29. VI 46 dzień wegetacji 46-th vegetation day			18. VII 65 dzień wegetacji 65-th vegetation day			9. VIII 86 dzień wegetacji 86-th vegetation day		
ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds
72	42	30	380	28	42	390	33	38
74	46	44	470	41	52	460	32	46
80	42	30	576	42	38	393	29	36
18	45	30	132	22	32	134	42	14
174	52	34	640	82	14	700	22	50
290	48	42	670	62	38	1 270	41	52
1740	44	10	28 000	nie oznaczono not examined		19 000	56	28
10	26	24	9,1	65	38	9,2	45	30

Ilości drobnoustrojów „fosforowych" w rizosferze roślin uprawnych

Number „phosphorus" microorganisms in the rhizosphere
Investigations in

Lp. On.	Roślina Plant / Daty analiz Analysis dates	14. VI 43 dzień wegetacji 43-th vegetation day			26. VI 55 dzień wegetacji 55-th vegetation day	
		ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$
1	Jęczmień Barley	9,8	25	42	5,6	39
2	Owies Oats	10,6	26	32	4,7	44
3	Len Flax	13,8	38	36	41,2	52
4	Gryka Buckwheat	7,7	3	67	7,5	40
5	Ziemniak Potatoes	62,0	38	55	31,4	42
6	Łubin Lupine	26,0	43	20	56,0	63
7	Groch Peas	13,8	12	37	24,0	22
8	Gleba nieobsiana Fallow	6,5	29	46	6,0	56

Tabela 16

w różnych okresach ich wegetacji. Badania w roku 1956

of crop plants in their different vegetation periods
the year 1956

	11. VII 70 dzień wegetacji 70-th vegetation day			20. VIII 110 dzień wegetacji 110-th vegetation day		
% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds	ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. korzeni lub gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of root dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganisms dissolving $Ca_3(PO_4)_2$	% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu % of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds
18	18,0	46	49	340,0	39	36
20	10,7	24	19	870,0	37	31
30	13,4	16	30	172,0	39	21
31	31,0	5	62	121,0	17	23
36	137,4	35	51	754,0	19	25
33	45,5	13	37	3 570,0	38	41
35	1 030,0	10	72	20 166,0	36	33
44	8,4	21	45	9,1	43	38

W początkach kwitnienia grochu ilość bakterii i promieniowców w jego rizosferze osiągnęła liczbę około 30 miliardów na 1 g s. m. korzeni, przewyższając w tym czasie kilkadziesiąt razy ilości tych drobnoustrojów znalezione na korzeniach innych roślin.

Podobnie kształtował się rozwój badanej mikroflory w roku następnym (1956). Największe ilości bakterii i promieniowców notowano w okresie dojrzewania roślin. Na korzeniach grochu znaleziono wtedy około 20 miliardów i na korzeniach łubinu około 3,5 miliarda komórek na 1 g s. m. korzeni (tab. 16).

W drugim roku badań obliczano oddzielnie ilości promieniowców i bakterii na starszych roślinach. Wyniki ilustruje tab. 17.

Tabela 17

Stosunek procentowy ilości bakterii do promieniowców w rizosferze roślin uprawnych. Badania w roku 1956

Relative number of bacteria to relative number of actinomycetes in rhizosphere of crop plants. Investigations in the year 1956

Rośliny Plants	Analiza 11. VII — w 70 dniu wegetacji Analysis 11. VII — in 70-th vegetation day		Analiza 20. VIII — w 110 dniu wegetacji Analysis 20. VIII — in 110-th vegetation day	
Jęczmień Barley	początek dojrzałości mlecznej beginning of seed milk stage	72 : 28	dojrzałość pełna full ripeness	95 : 5
Owies Oats	po wykłoszeniu after heading	84 : 16	dojrzałość pełna full ripeness	95 : 5
Len Flax	kwitnienie blooming	71 : 29	dojrzewanie nasion seed ripening period	76 : 24
Gryka Buckwheat	zawiązywanie nasion seed forming	23 : 77	dojrzewanie nasion seed ripening period	39 : 61
Ziemniaki Potatoes	po okresie kwitnienia after blooming period	60 : 40	dojrzewanie bulw bulb ripening period	78 : 22
Łubin Lupine	początek kwitnienia beginning of blooming	97 : 3	dojrzewanie nasion seed ripening period	87 : 13
Groch Peas	pełnia kwitnienia full blooming	99 : 1	dojrzałość pełna full ripeness	98 : 2
Gleba nieobsiana Fallow		74 : 26		68 : 32

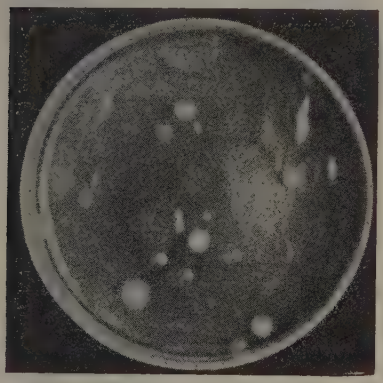
Jak widzimy z tab. 17, mikroflora korzeni roślin motylkowych składała się w przeważającej ilości z bakterii, podczas gdy drobnoustroje ko-

rzeniowe pozostałych badanych roślin były reprezentowane obok bakterii przez znaczne ilości promieniowców. Na korzeniach gryki zaznaczyła się nawet przewaga ilości promieniowców (61—77%) nad ilością bakterii (fot. rys. 28).

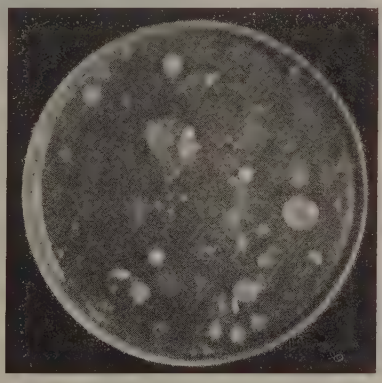
Należy zwrócić uwagę, że zespoły bakterii wyrosłe na pożywce Gräfa były charakterystyczne dla poszczególnych roślin (fot. rys. 25—30).

Ogólne ilości bakterii i promieniowców bytujących na korzeniach roślin w czasie ich kwitnienia. 5-dniowa hodowla na pożywce Gräfa

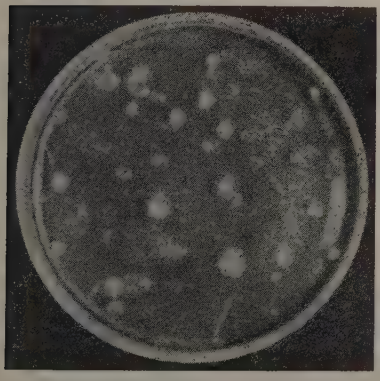
Total number of bacteria and actinomycetes found in rhizosphere during plant blooming. 5-day cultures on Gräf medium



Rys. 25. Drobnoustroje z korzeni jęczmienia
Fig. 25. Microorganisms from rhizosphere of barley

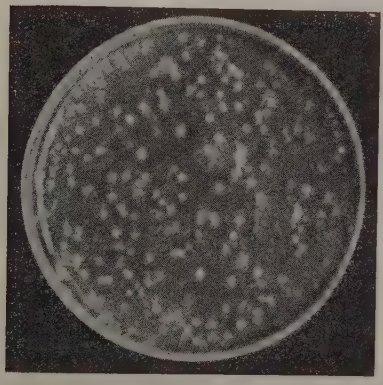


Rys. 26. Drobnoustroje z korzeni owsa
Fig. 26. Microorganisms from rhizosphere of oats

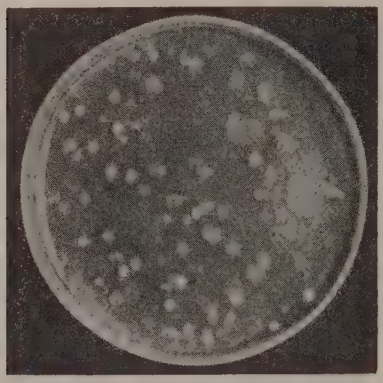


Rys. 27. Drobnoustroje z korzeni lnu

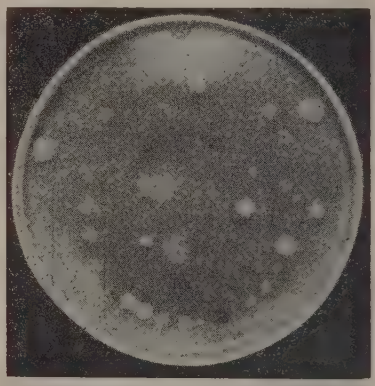
Fig. 27. Microorganisms from rhizosphere of flax



Rys. 28. Drobnoustroje z korzeni gryki
Fig. 28. Microorganisms from rhizosphere of buckwheat



Rys. 29. Drobnoustroje z korzeni ziemniaka
Fig. 29. Microorganisms from rhizosphere of potatoes



Rys. 30. Drobnoustroje z gleby nieobsianej
Fig. 30. Microorganisms from fallow

Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia i mineralizujące organiczne związki fosforu oznaczane metodą ilościowo-jakościową

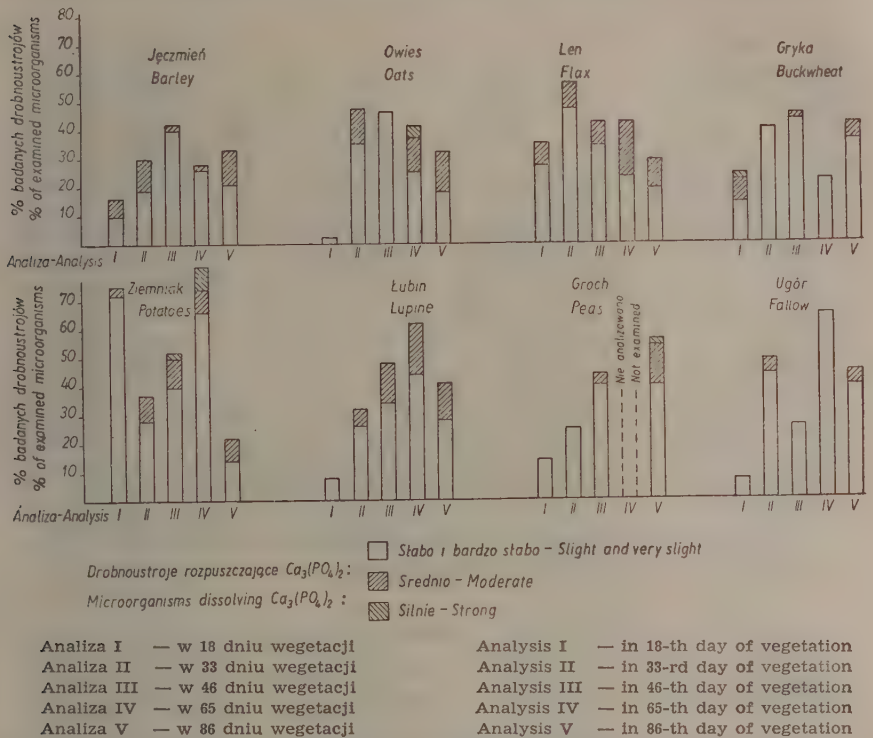
a) Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia

W roku 1955 określono przy pomocy metody ilościowo- jakościowej w 40 zespołach mikroflory glebowej, wyodrębnionych z rizosfery 7 roślin uprawnych, w różnych okresach ich wegetacji lub z gleby nieobsianej, ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia, oznaczając równocześnie stopień ich aktywności w tym kierunku. Wyniki ilustrują tab. 15 oraz rys. 31.

Ogólnie można powiedzieć, że niezależnie od pochodzenia badanych zespołów bakterii i promieniowców, najliczniejszą grupę stanowiły w nich drobnoustroje w słabym lub bardzo słabym stopniu rozpuszczające fosforany wapnia. Ilości ich wahały się w tych zespołach w granicach 2—72%. Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia w stopniu średnim były mniej liczne i stanowiły około 2—19% całej wyodrębnionej mikroflory, a silnie rozpuszczające te związki występowały w pojedynczych wypadkach.

Liczebność drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia ulegała w ciągu wegetacji roślin dużym zmianom i to szczególnie w rizosferze ziemniaka, łubinu i grochu. Również i w glebie nieobsianej ilości tych drobnoustrojów ulegały w poszczególnych terminach badania dużym wahaniom (od około 5 do 65%).

Podobne wyniki otrzymano w roku 1956, w którym przebadano ogółem 32 zespoły drobnoustrojów wyodrębnionych z korzeni roślin w ciągu ich



Analiza I	— w 18 dniu wegetacji	Analysis I	— in 18-th day of vegetation
Analiza II	— w 33 dniu wegetacji	Analysis II	— in 33-rd day of vegetation
Analiza III	— w 46 dniu wegetacji	Analysis III	— in 46-th day of vegetation
Analiza IV	— w 65 dniu wegetacji	Analysis IV	— in 65-th day of vegetation
Analiza V	— w 86 dniu wegetacji	Analysis V	— in 86-th day of vegetation

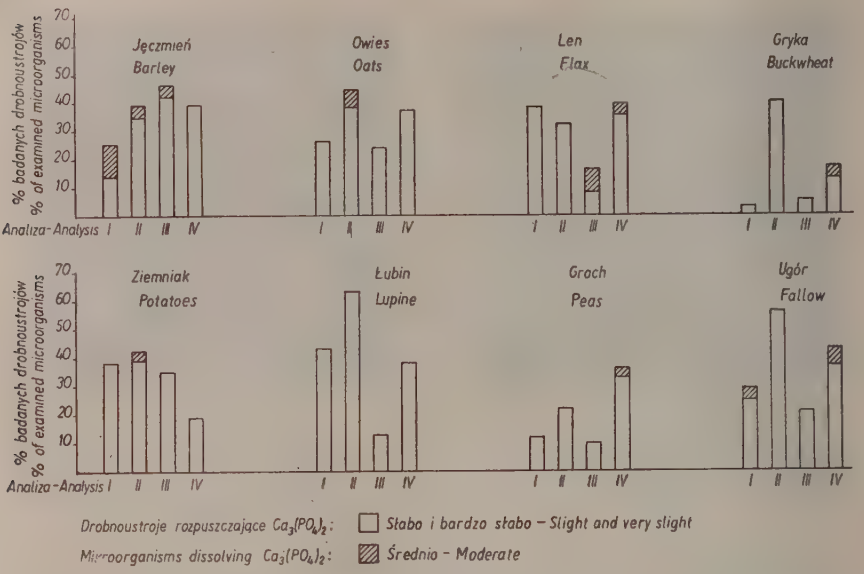
Rys. 31. Względne ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia, bytujących w rizosferze roślin uprawnych w różnych okresach ich wegetacji (1955)

Fig. 31. Relative numbers of microorganisms dissolving calcium phosphates, growing in the rhizosphere of crop plants in their different vegetation periods (1955)

wegetacji (tab. 16, rys. 32). Na ogół jednak zespoły te były mniej aktywne, niż w roku poprzednim. Nie znaleziono w nich bowiem zupełnie drobnoustrojów dobrze rozpuszczających fosforany wapnia. Poza tym ilości badanej mikroflory, występujące na korzeniach grochu i gryki, były w ogóle mniejsze, niż w roku 1955. Na korzeniach łubinu w czasie jego kwitnienia, podobnie jak u lnu, zaznaczyło się — nie notowane w roku poprzednim — silne zahamowanie rozwoju drobnoustrojów czynnych przy rozpuszczaniu mineralnych połączeń fosforu.

b) Drobnoustroje mineralizujące organiczne związki fosforu

Korzenie roślin uprawnych okazały się dobrym siedliskiem dla rozwoju drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu (tab. 15, 16, rys. 33, 34). Stanowiły one bowiem 10—70% wszystkich analizowanych szczepów, przy czym liczebność ich ulegała dużym zmianom w zależności od okresu wegetacji roślin, szczególnie u gryki, ziemniaka i grochu.



Analiza I — w 43 dniu wegetacji	Analysis I — in 43-rd day of vegetation
Analiza II — w 55 dniu wegetacji	Analysis II — in 55-th day of vegetation
Analiza III — w 70 dniu wegetacji	Analysis III — in 70-th day of vegetation
Analiza IV — w 110 dniu wegetacji	Analysis IV — in 110-th day of vegetation

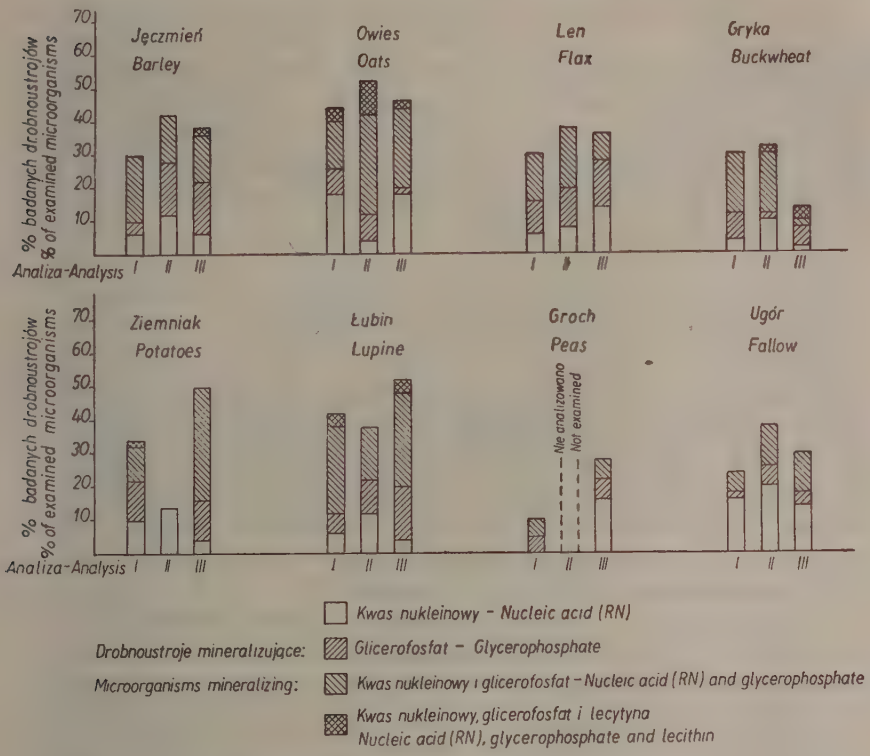
Rys. 32. Względne ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia, bytujących w rizosferze roślin uprawnych w różnych okresach ich wegetacji (1956)

Fig. 32. Relative numbers of microorganisms dissolving calcium phosphates, growing in the rhizosphere of crop plants in their different vegetation periods (1956)

Rok 1955

Wyniki badań w roku 1955 ilustrują tab. 15 i rys. 33. Widzimy, że zespoły wyodrębnione z rizosfery owsa, gryki i łubinu były na ogół najliczniej reprezentowane przez drobnoustroje mineralizujące zarówno kwas nukleinowy, jak glicerofosfat. W zespołach z rizosfery jęczmienia i lnu dominowały na ogół dwie grupy: mineralizujące albo tylko glicerofosfat, albo też mineralizujące oprócz glicerofosfatu kwas nukleinowy. W rizosferze grochu i ziemniaka ilości tych drobnoustrojów wahały się silniej, niż u innych badanych roślin w zależności od wieku rośliny. Na przykład w 65 dniu wegetacji ziemniaków występowały w ich rizosferze drobnoustroje mineralizujące tylko kwas nukleinowy, natomiast w 86 dniu wegetacji, w czasie kwitnienia tych roślin, główną grupę stanowiły drobnoustroje mineralizujące kwas nukleinowy i glicerofosfat.

Drobnoustroje uzdolnione do mineralizowania trzech organicznych związków fosforu: kwasu nukleinowego, glicerofosfatu i lecytyny wystę-



Analiza I — w 46 dniu wegetacji
Analiza II — w 65 dniu wegetacji
Analiza III — w 86 dniu wegetacji

Analysis I — in 46-th day of vegetation
Analysis II — in 65-th day of vegetation
Analysis III — in 86-th day of vegetation

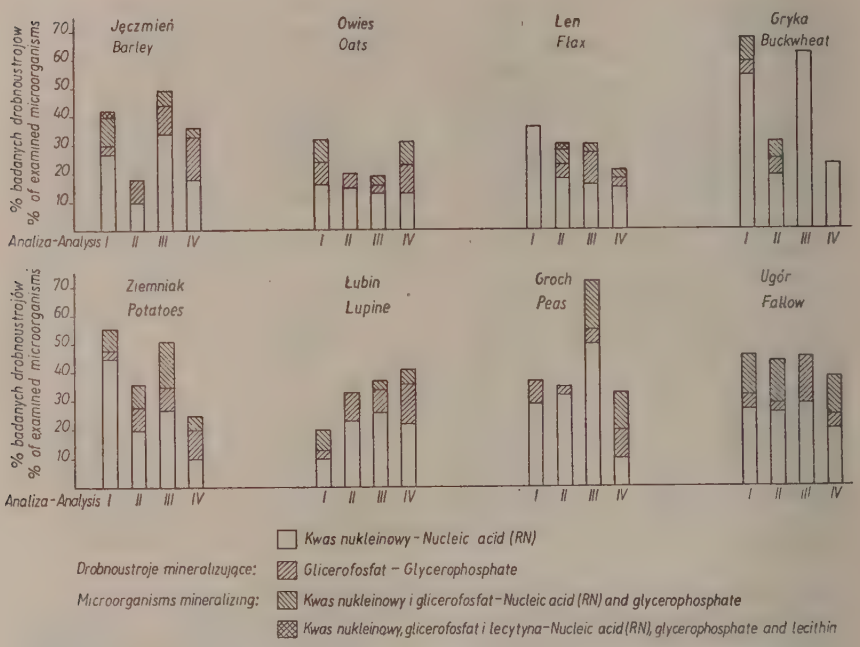
Rys. 33. Względne ilości drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu, bytujących w rizosferze roślin uprawnych w różnych okresach ich wegetacji (1955)

Fig. 33. Relative numbers of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds, growing in the rhizosphere of crop plants in their different vegetation periods (1955)

powały na korzeniach roślin bardzo rzadko. Obecność ich notowano stosunkowo częściej na korzeniach owsa, gryki i łubinu. Drobnoustrojów mineralizujących tylko lecytynę nie znaleziono.

Rok 1956

Rozpatrując wyniki otrzymane w roku 1956 (tab. 16, rys. 34) trzeba stwierdzić, że grupy drobnoustrojów mineralizujących zbadane organiczne związki fosforu były mniej zróżnicowane, niż w roku poprzednim. Na ogół we wszystkich fazach wegetacyjnych roślin przewagę miały drobnoustroje mineralizujące tylko kwas nukleinowy.



Analiza I — w 43 dniu wegetacji
Analiza II — w 55 dniu wegetacji
Analiza III — w 70 dniu wegetacji
Analiza IV — w 110 dniu wegetacji

Analysis I — in 43-rd day of vegetation
Analysis II — in 55-th day of vegetation
Analysis III — in 70-th day of vegetation
Analysis IV — in 110-th day of vegetation

Rys. 34. Względne ilości drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu, bytujących w rizosferze roślin uprawnych w różnych okresach ich wegetacji (1956)
Fig. 34. Relative numbers of microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds, growing in the rhizosphere of crop plants in their different vegetation periods (1956)

W czasie kwitnienia grochu, gryki oraz ziemniaka zaznaczył się na ich korzeniach, nie notowany w roku 1955, silny przyrost ilości omawianych tu drobnoustrojów (51—72%). Być może, że związki wydzielane w czasie kwitnienia tych roślin, sprzyjały rozwojowi tej grupy drobnoustrojów.

Wśród badanej mikroflory znaleziono na korzeniach gryki, także ziemniaka i lnu duże ilości promieniowców, liczniejsze niż w poprzednim roku badań. Drobnoustroje te przeważnie mineralizowały tylko kwas nukleinowy. W zespołach wyodrębnionych z korzeni gryki— w czasie jej kwitnienia i dojrzewania — promieniowce stanowiły ponad 90% drobnoustrojów mineralizujących organiczne związki fosforu.

W zespołach z gleby nieobsianej ilości drobnoustrojów mogących uwalniać fosfor z jego połączeń organicznych wynosiły w obu latach badań około 25—50%. Najliczniejszą grupę stanowiły tu drobnoustroje

mineralizujące tylko kwas nukleinowy, i z kolei drobnoustroje mineralizujące kwas nukleinowy i glicerofosfat.

Zarówno w badaniach w roku 1955, jak i w roku 1956 stwierdzono, że jedne z wyodrębnionych drobnoustrojów zakwaszały płynne pożywki z kwasem nukleinowym i glicerofosfatem, gdy inne szczepy je alkalizowały. Rzadko występowały drobnoustroje, rozkładające obok kwasu nukleinowego i glicerofosfatu lecytynę. Alkalizowały one płynną pożywkę z lecytyną.

3. Działanie zespołów mikroflory rozpuszczających fosforany wapnia oznaczonych metodą „kropelkową"

Analizy mikrobiologiczne wykonano w pierwszym roku badań (1955) w 3 okresach rozwoju roślin: w 53 dniu wegetacji (strzelanie w źdźbło u jęczmienia i owsa), w czasie kwitnienia roślin i podczas ich dojrzewania.

W tab. 18 widzimy, że w 53 dniu wegetacji najsilniej rozpuszczały fosforany wapnia zespoły drobnoustrojów korzeni łubinu, gryki i grochu. Działanie drobnoustrojów wyodrębnionych w tym czasie z korzeni jęczmienia, owsa i lnu przejawiło się w stopniu średnim, a zespoły z korzeni ziemniaka działały słabo.

Z zespołów wyodrębnionych podczas kwitnienia roślin najbardziej aktywne były w dalszym ciągu zespoły pochodzące z korzeni łubinu i gryki, prócz tego wzrosła w tym czasie, w porównaniu z poprzednim okresem badania, aktywność zespołów bytujących na korzeniach owsa i ziemniaka. Drobnoustroje z korzeni grochu wykazywały w tym okresie średnią aktywność.

W czasie dojrzewania roślin najmniejszą aktywność wykazywały drobnoustroje bytujące na korzeniach gryki i ziemniaka, największą — zespoły z korzeni łubinu.

Zauważono, że wygląd kolonii badanych zespołów był swoisty dla poszczególnych roślin, zwłaszcza w młodszym ich wieku.

Drobnoustroje z korzeni gryki i grochu tworzyły na agarowej pożywce Pikowskiej kolonie jednolite i śluzowate, o bujnym wzroście, przeważnie barwy żółtawej.

Zespoły mikroflory pochodzące z korzeni łubinu i ziemniaka dawały kolonie różnorodne pod względem wyglądu zewnętrznego. Niektóre z nich odznaczały się bujnym wzrostem, gdy reszta wykazywała wzrost umiarkowany.

Badane drobnoustroje z korzeni owsa, jęczmienia i lnu tworzyły na ogół kolonie szarobiaławe i płaskie. U lnu występowały także charakterystyczne kolonie z seledynowozielonkowym zabarwieniem.

W zespołach wyodrębnionych z korzeni gryki i ziemniaka w starszym ich wieku obserwowano dużo promieniowców.

Tabela 18

Wpływ rodzaju i wieku roślin na intensywność rozpuszczania fosforanów wapnia przez drobnoustroje bytujące w ich rizosferze. Badania w roku 1955

The effect of plant genus and vegetation period upon intensesess of calcium phosphate dissolving by microorganisms growing in their rhizosphere. Investigations in the year 1955

L. p. O. n.	Roślina Plant / Daty analiz Analysis dates	6. VII (53 dzień wegetacji) (53-rd vegetation day)			19. VII (66 dzień wegetacji) (66-th vegetation day)			8. VIII (86 dzień wegetacji) (86-th vegetation day)		
		% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing	% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing	% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing
1	Jęczmień			słaby			średni			średni
	Barley	60	20—25	slight	68	20—25	moderate	64	20	moderate
2	Owies			słaby			bardzo silny u pojedyn. kolonii			średni
	Oats	44	20—25	slight	52	30—40	with single colonies-very strong	60	20	moderate
3	Len			słaby			średni			słaby
	Flax	72	20—25	slight	48	20—25	moderate	52	10—15	slight
4	Gryka			silny			średni			bardzo słaby
	Buckwheat	72	50—60	strong	34	30—35	moderate	20	2— 5	very slight

5	Ziemniak Potatoes	40	8—10	słaby slight	76	20—25	słaby slight	20	2— 5	bardzo słaby very slight
6	Łubin Lupine	92	75—80	silny strong	88	30—50	średni (u pojedyn. kolonii silny) moderate (with single colonies-strong)	76	25	średni moderate
7	Groch Peas	84	50—55	średni moderate	64	25—40	średni moderate	nie oznaczono not determined		
8	Gleba nieobsiana Fallow	20	2 -- 5	Bardzo słaby Very slight	48	2— 5	słaby slinght	24	2— 5	słaby slight

Wpływ rodzaju i wieku roślin na intensywność rozpuszczania
Badania
The effect of plant genus and vegetation period upon intenseness of calcium
Investigations

L. p. O. n.	Roślina Plant / Daty analiz Analysis dates	10. VI (39 dzień wegetacji) [1] (39-th vegetation day)			14. VI (43 dzień wegetacji) (43-rd vegetation day)		
		% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing	% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing
1	Jęczmień Barley	19	1—3	słaby slight	27	5	słaby slight
2	Owies Oats	29	10—15	średni moderate	69	do 20	silny strong
3	Len Flax	6	ślady traces	słaby slight	5	ślady traces	bardzo słaby very slight
4	Gryka Buckwheat	37	10—20	średni moderate	37	ślady traces	słaby slight
5	Ziemniak Potatoes	5	ślady traces	słaby slight	52	do 12	silny strong
6	Łubin Lupine	32	15	silny strong	27	ślady traces	słaby slight
7	Groch Peas	38	10—15	słaby slight	57	5—10	słaby slight
8	Gleba nieobsiana Fallow	nie znaleziono not found			12	ślady traces	słaby slight

[1] W tej analizie korzenie wzięte do badań płukano dwukrotnie sterylizowaną wodą

[1] In this analysis examined roots had been rinsed twice with sterilized water

Tabela 19

fosforanów wapnia przez drobnoustroje bytujące w ich rizosferze w roku 1956

phosphate dissolving by microorganisms growing in their rhizosphere in the year 1956

26. VI (55 dzień wegetacji) (55-th vegetation day)			20. VII (79 dzień wegetacji) (79-th vegetation day)			20. VIII (110 dzień wegetacji) (110-th vegetation day)		
% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing	% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing	% kolonii drobnoustrojów rozpuszczających $Ca_3(PO_4)_2$ % of microorganism colonies dissoolving $Ca_3(PO_4)_2$	% powierzchni pożywki z rozpuszczonym przez drobnoustroje $Ca_3(PO_4)_2$ % of agar medium surface with dissolving by microorganisms $Ca_3(PO_4)_2$	stopień przejaśnienia pożywki degree of agar medium clearing
13	do 3	słaby slight	21	do 5	średni moderate	91	do 10	średni moderate
26	do 10	średni moderate	25	do 5	średni moderate	100	do 10	słaby slight
12	do 5	słaby slight	16	do 3	średni moderate	66	5—10	średni moderate
12	do 4	słaby slight	8	ślady traces	bardzo słaby very slight	85	do 10	słaby slight
7	ślady traces	bardzo słaby very slight	25	do 5	słaby slight	24	1—5	bardzo słaby very slight
24	do 8	słaby slight	27	do 6	słaby slight	97	do 20	średni moderate
43	do 25	silny strong	39	do 10	słaby slight	pożywka porośnięta grzybami on culture medium — strong growth of fungi		
10	1—2	bardzo słaby very slight	1	ślady traces	bardzo słaby very slight	31	do 3	bardzo słaby very slight

W obrazie mikroskopowym badane drobnoustroje miały przeważnie kształt pałeczek (0,1—0,3 × 0,8—1,5 μ).

Interpretując wyniki otrzymane z 5 analiz, wykonanych w czasie wegetacji w roku 1956 (tab. 19), ogólnie można powiedzieć, że różnice w intensywności rozpuszczania fosforanów wapnia przez zespoły wyodrębnione z korzeni poszczególnych roślin, zacierały się w starszym wieku roślin i że były mniej wyraźne, niż w poprzednim roku.

Najsłabsze działanie wykazywały drobnoustroje z korzeni lnu jęczmienia i na ogół z korzeni ziemniaka. Aktywność zespołów wyodrębnionych w ciągu wegetacji z korzeni owsa i grochu przejawiała się w stopniu średnim. Zespoły drobnoustrojów na korzeniach gryki były najbardziej aktywne w młodszym wieku tej rośliny. Działanie drobnoustrojów z korzeni łubinu zaznaczyło się najsilniej również w młodszym wieku roślin, a także w czasie ich dojrzewania.

Jak w poprzednim roku, wygląd kolonii badanych zespołów drobnoustrojów był swoisty dla poszczególnych roślin.

Drobnoustroje gleby ugorowanej wykazywały w obu latach badania słabe działanie.

4. Omówienie wyników analiz mikrobiologicznych

Rozprzestrzenienie w rizosferze roślin uprawnych drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia określano przy pomocy 2 metod: metody ilościowo jakościowej oraz metody „kropelkowej".

Metoda ilościowo jakościowa pozwalała na oznaczanie stopnia intensywności rozpuszczania tych związków przez poszczególne szczepy wchodzące w skład wyodrębnionych zespołów. Poza tym z pomocą tej metody można było określać zdolność tych szczepów do wykorzystywania innych związków fosforu, w szczególności do mineralizowania związków organicznych (tab. 15, 16).

Natomiast metoda „kropelkowa" umożliwia badanie aktywności całych zespołów drobnoustrojów przy rozpuszczaniu fosforanów wapnia (tab. 18, 19).

Wprawdzie drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia występowały w rizosferze badanych roślin powszechnie, to jednak uwidocznił się różnicujący wpływ roślin na liczebność i aktywność tych organizmów. Wpływ ten zależał nie tylko od gatunku, ale i wieku roślin. Na ogół najbardziej czynne przy rozpuszczaniu fosforanów wapnia okazały się zespoły drobnoustrojów wyodrębnione z korzeni łubinu. Zespoły z korzeni owsa i z korzeni grochu były w średnim stopniu uzdolnione do prowadzenia tego procesu. Natomiast zespoły pochodzące z korzeni ziemniaka, lnu, jęczmienia, a także gryki przejawiały na ogół słabą aktywność przy rozpuszczaniu fosforanów wapnia (tab. 18, 19).

Drobnoustroje mineralizujące organiczne związki fosforu znajdowały w rizosferze analizowanych korzeni roślin korzystne warunki dla swojego rozwoju. Nasilenie ich występowania w tym środowisku zależało — jak się wydaje — w większym stopniu od fazy rozwojowej roślin, niż ich rodzaju (rys. 33, 34).

Ilości bakterii i promieniowców znalezione na korzeniach roślin motylkowych: łubinu i zwłaszcza grochu były znacznie większe, niż na korzeniach jęczmienia, owsa, lnu, gryki i ziemniaka (tab. 15, 16). Poza tym badane rośliny motylkowe różniły się od niemotylkowych także tym, że mikroflora ich korzeni składała się w przeważającej ilości z bakterii, podczas gdy w skład mikroflory korzeniowej roślin niemotylkowych wchodziły duże ilości promieniowców. U gryki w okresie dojrzewania stanowiły one nawet przeważającą grupę drobnoustrojów (tab. 17). Promieniowce okazały się w pożywkach syntetycznych silnymi mineralizatorami kwasu nukleinowego.

Porównując wyniki badań w roku 1955 z wynikami otrzymanymi w roku 1956, należy stwierdzić, że różniły się one w wielu wypadkach między sobą. Na przykład w roku 1955 nasilenie występowania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia było na korzeniach gryki i grochu większe, niż w roku 1956 (porównaj rys. 31 z rys. 32). Ponadto zespoły drobnoustrojów uzdolnionych do mineralizowania organicznych związków fosforu były w roku 1955 bardziej zróżnicowane, w zależności od rodzaju i wieku roślin, niż w roku następnym (porównaj rys. 33 z rys. 34).

Jednym z powodów otrzymania odmiennych wyników w latach 1955 i 1956 mogły być: inny przedplon uprawianych roślin (ziemniaki na oborniku w roku 1955 i pszenica na nawozach mineralnych w roku 1956) oraz inne warunki klimatyczne w czasie wegetacji roślin w obu latach (tab. 20).

Tabela 20

Rozkład opadów w Gorzowie Wlkp. w miesiącach letnich w roku 1955 i 1956
Schedule of rain falls in Gorzów Wykp. in summer months

Rok Year / Miesiące Months	1955	1956
	suma opadów w miesiącu w mm total amount of rain falls in month in mm	
Maj May	24,1	14.5
Czerwiec June	57,7	118,1
Lipiec July	143,6	29,1
Sierpień August	63,3	70,5

C. SZCZEPIENIE ROŚLIN BAKTERIAMI ROZPUSZCZAJĄCYMI FOSFORANY WAPNIA

Wobec tego, że w glebie i w rizosferze roślin rozwijają się bakterie zdolne do rozpuszczania fosforanów wapnia i do pobierania z nich fosforu, postanowiono zbadać, jaki mogą one mieć wpływ na odżywianie się roślin fosforem. W tym celu przez trzy lata (1955—57) prowadzono doświadczenia wazonowe ze szczepieniem wybranych roślin uprawianych na różnych glebach. Obserwowano przy tym, czy bakterie użyte jako szczepionki (szczepy nr 13 i nr 14), które rozpuszczają fosforany wapniowe na pożywkach syntetycznych, mogą rozpuszczać te związki także w glebie i to w takim stopniu, aby móc udostępnić fosfor roślinom.

Wprawdzie w glebie w doświadczeniach laboratoryjnych rozpuszczanie fosforanów wapnia pod wpływem tych bakterii było słabe lub się nie przejawiało (tab. 9, 11, 12), sądzono jednak, że w warunkach wegetacyjnych — dzięki stopniowemu pobieraniu przez rośliny dostępnych fosforanów — wyraźniej zaznaczy się ewentualnie korzystne działanie stosowanych szczepionek.

Metodyka badań

Ogółem przeprowadzono w latach 1955—57 dziewięć doświadczeń wazonowych, wybierając do nich rośliny, które różnią się znacznie stopniem wrażliwości na brak przyswajalnego fosforu w glebie, a mianowicie: owies, słabiej reagujący na brak przyswajalnego fosforu, oraz len i jęczmień reagujące — jak wiadomo — w stopniu silniejszym.

Celem poznania, w jakim stopniu oddziaływanie szczepionek zależy od zawartości substancji organicznej w środowisku, do którego je wprowadzano, stosowano obok podłoży mineralnych (piasek kwarcowy, piasek gliniasty), podłoża organiczne (torf lub gleba przytorfowa). W doświadczeniu z piaskiem kwarcowym dodawano do niego glikozę.

We wszystkich doświadczeniach używano wazonów Wagnera, które napełniano 9 kg gleby mineralnej lub 5 kg torfu.

Podstawowe nawozy stosowano w postaci chemicznie czystych soli (azotan wapnia, azotan amonu, azotan potasu, siarczan potasu). Nawóz fosforowy dawno w postaci fosforytów krajowych (13,3—16,5% P_2O_5), wysoko procentowego apatytu (39,6% P_2O_5) lub mączki kostnej (36,1% P_2O_5). Stosowano je w ilości odpowiadającej 0,2—0,3 g, a w doświadczeniach na glebie przytorfowej — 0,8 g P_2O_5 ogólnego na wazon.

Siew wykonywano w następnym dniu po napełnieniu wazonów glebą.

Jako szczepionek używano szczepów nr 13 i nr 14 — a w jednym doświadczeniu mieszanki kilku szczepów: nr 1, 13, 14, 18 i 34 — rozpusz-

czających fosforany wapnia na pożywkach sztucznych, opisanych w poprzedniej części pracy. Szczepionki te wprowadzano bezpośrednio do wazonów lub też uprzednio szczepiono nimi komposty torfowo fosforytowe, które stosowano następnie zamiast nawozów fosforowych.

W niektórych doświadczeniach, dla porównania lub uzupełnienia działania bakterii rozpuszczających fosforany wapniowe, wprowadzano także do gleby bakterie mineralizujące organiczne związki fosforu, wśród nich — otrzymany z ZSRR *Bac.megatherium var. phosphaticum* (Fosforobakteryna). Szczep A-22, mineralizujący organiczne związki fosforu, stosowano w mieszance ze szczepem nr 14.

Na zakończenie przeprowadzono orientacyjne doświadczenie z łubinem, wprowadzając do gleby przed siewem jako szczepionkę szczep nr 14, aby się przekonać, czy szczep ten, jako wyodrębniony właśnie z rizosfery łubinu, może wpłynąć na uruchamianie fosforu w glebie obsianej tą rośliną.

Wilgotność piasku kwarcowego, piasku gliniastego i gleby przytorfowej utrzymywano w pierwszym okresie rozwoju roślin na poziomie 50%, a w okresie pełnego ich rozwoju na poziomie 60% maksymalnego nasycenia pojemności wodnej każdego z użytych podłoży. Wilgotność torfu utrzymywano w czasie wegetacji roślin na poziomie 60—70% pojemności wodnej.

Ilość powtórzeń w poszczególnych kombinacjach wynosiła 4 (w jednym z doświadczeń — 6).

Bardziej szczegółowy opis metodyki doświadczeń wegetacyjnych podano przy omawianiu poszczególnych doświadczeń.

Analizy mikrobiologiczne. W czasie wegetacji roślin sprawdzono żywotność użytych szczepionek w glebie pod roślinami, oznaczając w nich występowanie drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia metodą ilościowo-jakościową lub „kropelkową", porównawczo w seriach szczepionych i kontrolnych.

Analizy chemiczne. Dla określenia wpływu użytych szczepionek na ilość fosforu pobieranego przez rośliny, oznaczano w plonach roślin zawartość fosforu ogólnego kolorymetrycznie (posługując się kolorymetrem Leitza).

Zawartość azotu w roślinach (metodą Kjeldahla) oznaczano tylko w doświadczeniach z roku 1956.

Odczyn podłoży glebowych określano potencjometrycznie (w KCl). W doświadczeniu z owsem na glebie przytorfowej posługiwano się tylko orientacyjną metodą Helliga.

Obliczenia statystyczne. Przy statystycznym opracowaniu wyników doświadczeń wazonowych posługiwano się metodą serii niezależnych o 1 i 2 zmiennych.

Doświadczenia wazonowe

1. Doświadczenie z jęczmieniem (1955)

Doświadczenie z jęczmieniem jarym miało charakter orientacyjny. Przeprowadzono je w szklarni w czasie od 19. III. do 29. IV. 1955 roku. Miało ono dać odpowiedź na pytanie, czy szczepienie bakteriami „fosforowymi", rozpuszczającymi na sztucznych podłożach trudno przyswajalne fosforany wapnia, może wpłynąć na uprzystępnienie roślinom fosforu z fosforytu. Sądzono, że wybór jęczmienia (odmiana „Skrzeszowicki"), jako rośliny wrażliwej na brak przyswajalnego fosforu, ułatwi wykazanie działania zastosowanych szczepionek.

Jako podłoża użyto piasku kwarcowego o pojemności wodnej 23%.

Pożywka podstawowa na wazon była następująca: 0,4 g N w postaci $Ca(NO_3)_2$, 0,4 g K_2O w postaci K_2SO_4, 0,61 g $MgSO_4$. 7 H_2O, 0,01 g $FeCl_3$, 0,002 g H_3BO_3, 0,004 g $MnSO_4$, 0,0004 g $CuSO_4$, oraz 0,0003 g $ZnSO_4$. Mikroelementy dano w 2 dawkach: przedsiewnie 19. III. i z początku kształtowania się 3 listka, u jęczmienia — 4. IV.

Fosfor zastosowano w postaci krajowego fosforytu niskoprocentowego (16,48% P_2O_5 ogólnego), w ilości 1,82 g na wazon, lub superfosfatu w ilości 1,34 g na wazon, co odpowiadało 0,3 g P_2O_5 ogólnego, zawartego w każdym z tych nawozów.

Prócz tego w niektórych kombinacjach dano glikozę, w ilości po 1 g i po 3 g na wazon. Cel zastosowania glikozy był dwojaki: 1) glikoza miała być źródłem energii, zapewniającym dobry rozwój zastosowanych szczepionek, 2) miała być tworzywem dla powstania kwasów pod wpływem tych szczepionek, oddziałując w ten sposób na rozpuszczanie fosforytów, podobnie jak w doświadczeniach laboratoryjnych. Schemat doświadczenia uwidoczniono w tab. 21.

Jedną serię wazonów zaszczepiono szczepem nr 14 rozpuszczającym fosforany wapnia, drugą mieszanką szczepu nr 14 z 4 innymi szczepami, aktywnymi także przy rozpuszczaniu tych związków (nr 1, 13, 14, 18, 34). Szczepionki przygotowywano w ten sposób, że z 3—5 dniowych hodowli na agarowej pożywce Pikowskiej przygotowywano wodne zawiesiny [1] drobnoustrojów, którymi w ilości 50 ml zwilżano z góry piasek następnego dnia po napełnieniu nim wazonów. Prócz samego piasku szczepiono również ziarna jęczmienia, po uprzednim ich wyjałowieniu [2] z rodzimej mikroflory.

[1] Nie obliczono ilości komórek drobnoustrojów w szczepionce.

[2] Sposób wyjaławiania: wytrząsanie nasion w ciągu 3 minut w 95% alkoholu, z kolei 2—3 krotne przemywanie sterylizowaną wodą, następnie wytrząsanie nasion przez 3 minuty w 0,2% sublimacie, po czym znów parokrotne przemywanie sterylizowaną wodą.

Tabela 21

Wpływ szczepienia bakteriami rozpuszczającymi fosforany wapnia na plon jęczmienia
Doświadczenie wazonowe na piasku kwarcowym w roku 1955
The effect of inoculation with bacteria dissolving calcium phosphats upon the yield of barley.
Pot-experiment on saud in the year 1955

Nr komb. No. comb.	Szczep Strain	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing	Plon powietrzno suchej masy jęczmienia w g na wazon Yield of barley air dry mass g per pot	Zawartość P_2O_5 w plonie jęczmienia Amount P_2O_5 in yield of barley	
				%	mg
1	Nieszczepiona Uninoculated	bez fosforu without phosphorus	2,97	0,293	8,7
3		fosforyt phosphorite	3,18	0,304	9,7
3		fosforyt + 1 g glikozy[1] phosphorite + 1 g glucose	2,87	0,259	7,4
4	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with the strain no. 14	bez fosforu without phosphorus	3,35	0,261	8,7
5		fosforyt phosphorite	3,41	0,244	8,3
6		fosforyt + 1 g glikozy phosphorite + 1 g glucose	3,26	0,250	8,2
7	Szczepiona mieszanką szczepów Inoculated with mixture of strains	bez fosforu without phosphorus	3,16	0,244	7,7
8		fosforyt phosphorite	2,99	0,269	8,0
9		fosforyt + 3 g glikozy phosphorite + 3 g glucose	2,59	0,263	6,8
10	Nieszczepiona Uninoculated	superfosfat superphosphate	5,94	1,025	60,9
11		superfosfat + 1 g glikozy superphosphate + 1 g glucose	6,10	0,995	60,7
12	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with the strain no. 14	superfosfat superphosphate	5,52	1,032	57,0
13		superfosfat + 1 g glikozy superphosphate + 1 g glucose	4,95	0,966	47,8

Nr komb. No. comb.	Szczep Strain	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing	Plon powietrzno suchej masy jęczmienia w g na wazon Yield of barley air dry mass g per pot	Zawartość P_2O_5 w plonie jęczmienia Amount P_2O_5 in yield of barley	
				%	mg
14	Szczepiona mieszanką szczepów	superfosfat superphosphate	4,94	1,069	52,8
15	Inoculated with mixture of strains.	superfosfat + 3 g glikozy superphosphate + 3 g glucose	4,49	1,038	46,6

Współcz. ufności P = 0,95
Confidence probability P = 0,95
Przedział ufności dla średnich arytmetycznych plonu w komb. nr
Interval of confidence for arithmetical means of yields in comb. no. 1—9: μt — 0,237
Przedział ufności dla średnich arytmetycznych plonu (obliczony łącznie) w komb. nr 1—15:
Interval of confidence for arithmetical means of yields in comb. no. 1—15: μt — 0,411

[1] Na wazon
[1] Per pot

W czasie wegetacji zauważono w tym doświadczeniu, począwszy od fazy 4 listka, nieco lepszy stan roślin na samym piasku i na piasku z fosforytem szczepionych szczepem nr 14, niż w serii nie szczepionej. Natomiast w serii szczepionej mieszanką szczepów rośliny były w tym czasie słabsze. Słabszy był także jęczmień, który otrzymał glikozę w dawce 3 g na wazon.

Rośliny sprzątnięto w czasie strzelania w źdźbło, po 39 dniach wegetacji (29. IV. 55). Plony roślin zestawiono w tab. 21.

Z przytoczonych danych widzimy, że plon jęczmienia na fosforycie, mimo zastosowania szczepionek bakterii „fosforowych" był słaby, w porównaniu z plonem na superfosfacie. Istotną zwyżkę plonu roślin (7—13%) otrzymano tylko pod wpływem szczepienia szczepem nr 14 na piasku bez nawożenia fosforowego oraz na piasku z fosforytem (tab. 21, komb. nr 4—6). Pobranie fosforu przez rośliny w omawianych kombinacjach było równie słabe jak w serii kontrolnej i wynosiło 8,2—8,7 mg/wazon (tab 21).

Mieszanka szczepu nr 14 z kilkoma innymi szczepami bakterii „fosforowych" nie wpłynęła na przyrost plonu jęczmienia, a na piasku z fosforytem z dodatkiem glikozy (3 g na wazon) spowodowała nawet drobne obniżenie plonu (tab. 21, komb. nr 7—9).

Natomiast na superfosfacie plon roślin był 1,5—2 razy, a plon fosforu nawet około 7 razy wyższy, niż w pozostałych kombinacjach. Pod wpływem szczepienia (zarówno szczepem nr 14, jak i mieszanką szczepów)

zaznaczyło się na tym nawozie obniżenie plonu jęczmienia o 10—26% w porównaniu z serią kontrolną, szczególnie silnie przy dodatku glikozy (tab. 21, komb. nr 10—15).

Z porównania ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w piasku kwarcowym pod jęczmieniem w seriach szczepionych i kontrolnych wynikałoby, że zastosowane jako szczepionki bakterie znalazły dobre warunki rozwoju w tym środowisku, zwłaszcza w obecności glikozy (tab. 22).

Omówienie wyników doświadczenia z jęczmieniem

W pierwszym doświadczeniu z jęczmieniem zastosowanie szczepionek bakterii „fosforowych" nie dało pożądanych wyników (tab. 21). Tylko na piasku bez nawożenia fosforem i na piasku z fosforytem otrzymano pod wpływem szczepienia szczepem nr 14 drobny przyrost plonu roślin (7—13%). Pobieranie jednak fosforu przez rośliny było w tych kombinacjach równie słabe jak w serii kontrolnej (tab. 21).

Szczep nr 14 użyty w mieszance z kilkoma innymi szczepami nie wpłynął na przyrost plonu roślin (tab. 21, komb. nr 7—9).

Przy dodaniu do piasku kwarcowego glikozy, szczególnie w większej dawce (3 g) zaznaczył się silny rozwój mikroflory (tab. 22). Był on zapewne powodem obniżenia się plonu jęczmienia w kombinacjach szczepionych, zwłaszcza w seriach z superfosfatem (tab. 21, komb. nr 10—15).

2. Doświadczenia z owsem i lnem na piasku gliniastym (1955).

Roślinami doświadczalnymi były owies („Przebój I") i len („Śląski II"), różniące się znacznie między sobą stopniem wrażliwości na brak przyswajalnego fosforu w glebie. Do tego doświadczenia użyto gleby piaszczystej o małej zawartości przyswajalnego fosforu, do której dodano 10% (objętościowo) gliny. Zawartość fosforu przyswajalnego wynosiła w tak przygotowanym podłożu 5,7 mg P_2O_5 w 100 g s. m. (wg Egnera), ilość fosforu ogólnego około 24 mg[1] w 100 g s. m., pH tej gleby mierzone w KCl wynosiło 7,3, a pojemność wodna 26,1%.

W doświadczeniu zastosowano następujące dawki nawozów podstawowych: N — w NH_4NO_3 i KNO_3 — 0,7 g N na wazon pod owies i 0,5 g N pod len.

Fosfor zastosowano albo w postaci mączki apatytowej (39,6% P_2O_5 ogólnego) albo mączki kostnej (36,1% P_2O_5 ogólnego), w ilości 0,3 g P_2O_5 ogólnego w tych nawozach na wazon pod owies i 0,2 g pod len. Schemat doświadczenia uwidoczniono w tab. 23.

[1] Oznaczono tylko zawartość fosforu ogólnego w samej glebie piaszczystej; wynosiła ona 24,2 mg P_2O_5 w 100 g s. m. gleby.

Ilość drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w piasku

Number of microorganisms dissolving calcium phosphates

L. p. O. n.	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing / Szczep Strain	Bez fosforu Without phosphorus				
		ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	procent drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates			
			silnie strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
			Analiza — 11 dni Analysis — 11 days			
1	Nieszczepiona Uninoculated	nie badano not examined				
2	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with the strain no. 14					
3	Szczepiona mieszanką szczepów Inoculated with mixture of strains					
			Analiza — 20 dni Analysis — 20 days			
1	Nieszczepiona Uninoculated	3,80	5	0	15	20
2	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with the strain no. 14	4,00	33	10	14	57
3	Szczepiona mieszanką szczepów Inoculated with mixture of strains	9,00	0	0	29	29

[1] W serii nieszczepionej i szczepionej szczepem nr 14 dodano 1 g glikozy na wazon,
[1] It was added 1 g glucose per pot in uninoculated series and in series inoculated

Tabela 22

kwarcowym pod jęczmieniem. Doświadczenie wazonowe w roku 1955

in sand sown with barley. Pot experiment in the year 1955

Fosforyt Phosphorite					Fosforyt + glikoza [1] Phosphorite + glucose				
ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	procent drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphate				ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. piasku total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g of sand dry mass	procent drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphate			
	silnie strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together		silnie strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
po wschodach after germination									
15,12	0	24	12	36	21,72	13	48	22	83
12,63	82	0	14	96	31,20	100	0	0	100
5.62	5	5	54	64	47,30	100	0	0	100
po wschodach after germination									
3,20	0	4	12	16	9,00	0	10	26	36
15,20	71	4	4	79	12,30	30	10	10	50
6,10	0	0	26	26	50,00	54	12	13	79

[1] w serii szczepionej mieszanką szczepów — 3 g glikozy
with the strain no. 14. — 3 g glucose in series inoculated with mixture of strains.

Wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon owsa.
The effect of inoculation with „phosphorus" bacteria upon the yield

Nr komb. No. of comb.	Szczep Strain	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing	Plon p. s. m. części nadziemnych w g na wazon Top air dry mass yield g per pot			
			w okresie strzelania w źdźbło in stalk development	w okresie pełnej dojrzałości in full ripeness period		
				nasiona seeds	słoma straw	razem together
1	Nieszczepiona Uninoculated	superfosfat superphospate	4,38 ± 0,07	22,67	27,31	49,98
2		bez fosforu without phosphorus	4,38 ± 0,07	8,17	9,53	17,70
3		apatyt apatite	4,23 ± 0,33	9,16	9,80	18,96
4		mączka kostna bone meal	4,94 ± 0,15	8,72	9,77	18,49
5	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	bez fosforu without phosphorus	4,64 ± 0,08	8,59	9,95	18,54
6		apatyt apatite	4,86 ± 0,24	8,48	9,79	18,27
7		mączka kostna bone meal	4,95 ± 0,01	7,62	9,54	17,16
8	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	bez fosforu without phosphorus	4,42 ± 0,21	8,17	9,52	17,69
9		apatyt apatite	4,75 ± 0,04	8,52	9,13	17,65
10		mączka kostna bone meal	5,18 ± 0,09	9,01	9,93	18,94
11	Szczepiona szczepem „A-22" Inoculated with strain „A-22"	bez fosforu without phosphorus	nie badano not examined	8,79	9,44	18,23
12		mączka kostna bone meal		9,49	10,03	19,52
13	Szczepiona szczepem „A-22" + nr 14 Inoculated with strain „A-22" + no. 14	bez fosforu without phosphorus		8,93	10,29	19,22
14		mączka kostna bone meal		9,56	10,40	19,96
Przedział ufności dla kombinacji nr Interval of confidence for combinations no.			2—10 μt;	0,928	0,849	1,580
Przedział ufności dla kombinacji (z wyjątkiem kombinacji z apatytem) nr Interval of confidence for combinations (except combinations with apatite) no.			2—14 μt:	1,129	0,884	1,842

Doświadczenie wazonowe na piasku gliniastym w roku 1955 Tabela 23
of oats. Pot experiment on loamy sand in the year 1955

Plon p. s. m. korzeni w g na wazon	Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5								
	w okresie strzelania w źdźbło in stalk development		w okresie pełnej dojrzałości in full ripeness period						
Root air dry mass yield g per pot	części nadziemne tops		nasiona seeds		słoma straw		razem together	korzenie roots	
	%	mg	%	mg	%	mg	mg	%	mg
9,82	nie badano not examined		0,522	118	0,035	9,6	127,6	0,211	20,7
2,94	0,190	8,3	0,639	52	0,071	6,8	58,8	0,267	7,8
3,37	0,198	8,4	0,606	55	0,066	6,5	61,5	0,275	9,3
4,16	0,185	9,1	0,614	53	0,055	5,4	58,4	0,279	11,6
4,39	0,183	8,5	0,622	53	0,075	7,5	60,5	0,262	11,5
4,73	0,185	9,0	0,626	53	0,087	8,5	61,5	0,254	12,0
4,43	0,188	9,3	0,623	47	0,086	8,2	55,2	0,287	12,7
3,89	0,177	7,8	0,606	49	0,072	6,8	55,8	0,271	10,5
4,10	0,200	9,5	0,580	49	0,062	5,7	54,7	0,269	11,0
3,39	0,204	10,6	0,580	52	0,075	7,4	59,4	0,277	9,4
2,95			0,627	55	0,075	7,1	62,1	0,250	7,4
3,64	nie badano not examined		0,630	60	0,062	6,2	66,2	0,277	10,0
3,84			0,550	49	0,044	4,5	53,5	0,261	10,0
3,88			0,565	54	0,057	5,9	59,9	0,254	9,8
0,923									
0,945	Współcz. ufności Confidence probability $P = 0,95$								

Jako szczepionki zastosowano szczepy nr 13, 14, A-22 i mieszankę 2 szczepów: nr 14 i A-22. Szczep nr 14 silnie rozpuszczał fosforany wapnia w pożywkach z glikozą, a nr 13 w stopniu średnim. Szczep A-22, otrzymany z Działu Mikrobiologii w Puławach, odznaczał się zdolnością mineralizowania kwasu nukleinowego i glicerofosfatu. Zastosowanie szczepu nr 14 razem ze szczepem A-22 miało na celu uwzględnienie bardziej wszechstronnego działania drobnoustrojów na połączenia fosforowe.

Szczepionkę przygotowano w podobny sposób, jak w doświadczeniu z jęczmieniem. Zaszczepiono nią glebę i ziarno owsa. Nasion lnu nie szczepiono, wskutek trudności ich wysiewania po zwilżeniu szczepionką, dano ją więc dopiero w kilka dni po wschodach. Na wazon wylewano po wschodach lnu po 50 ml wodnej zawiesiny [1] drobnoustrojów.

Ilość równoległych powtórzeń w seriach ze szczepem nr 13 i nr 14 wynosiła po 6, z czego po 2 wazony z owsem [2] przeznaczono do cięcia roślin w okresie strzelania ich w źdźbło. W pozostałych kombinacjach ilość równoległych powtórzeń wynosiła 4.

Doświadczenie z owsem. Owies zasiano 31. V. Nieznaczne różnice pod wpływem szczepienia na korzyść owsa wystąpiły w czasie krzewienia się roślin, na glebie bez nawożenia fosforem szczepionej szczepem nr 13 oraz w serii szczepionej szczepem A-22. W okresie strzelania w źdźbło lepszy był także rozwój roślin na glebie z apatytem przy zastosowaniu szczepu nr 13 lub 14, a także w serii szczepionej mieszanką szczepów: nr 14 i A-22. Na ogół jednak rośliny rozwijały się słabo, z wyjątkiem roślin na superfosfacie.

W celu poprawienia wegetacji roślin dokarmiono je w okresie strzelania w źdźbło małą dawką fosforu, w ilości 40 mg P_2O_5 na wazon, w postaci NaH_2PO_4. Zastosowana dawka fosforu nieco polepszyła rozwój owsa.

Rośliny ścięto w czasie pełnej dojrzałości (22. VIII).

Jak widzimy z tab. 23, szczepienie nie wywarło wyraźniejszego korzystnego wpływu na plon części nadziemnych roślin. W niektórych kombinacjach, np. na glebie bez nawozu fosforowego, szczepionej szczepem nr 13 lub mieszanką szczepów nr 14 i A-22, widoczna była tylko tendencja zwyżkowa końcowego plonu roślin (tab. 23, komb. nr 5, 13). W kombinacji z mączką kostną szczepionej szczepem nr 13 plon roślin był nawet niższy (o 9%), niż w kombinacji kontrolnej (tab. 23, komb. nr 7).

Zastosowane szczepionki wpłynęły na plon korzeni roślin w stopniu silniejszym, niż na plon części nadziemnych. W szczególności na glebie bez nawozu fosforowego zwyżka plonu korzeni w seriach szczepionych szczepem nr 13 lub 14 wynosiła około 25—30%, w porównaniu z serią nieszczepioną. Na apatycie istotna zwyżka plonu korzeni wystąpiła tylko

[1] Nie określono wieku hodowli drobnoustrojów, ani nie obliczono ilości ich komórek zawartych w szczepionce.

[2] Lnu nie ścinano w okresie wegetacji z uwagi na późniejszy jego wysiew.

Tabela 24

Ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w piasku gliniastym pod owsem

Doświadczenie wazonowe w roku 1955

Number of microorganisms dissolving calcium phosphates in loamy sand sown with oats

Pot experiment in the year 1955

L.p. O.n.	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing	Szczep Strain	Ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. gleby Total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g soil dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates			
				silnie strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
		Analiza 5-go dnia po zasianiu owsa Analysis on fifth day after sowing of oats					
1	Bez fosforu Without phosphorus	nieszczepiona control	2,27	0	8	54	62
2		szczepiona szczepem nr 14 inoculated with strain no. 14	3,61	39	4	34	77
3	Apatyt Apatite	nieszczepiona control	1,96	0	10	40	50
4		szczepiona szczepem nr 14 inoculated with strain no. 14	3,82	28	5	52	85
5	Mączka kostna Bone meal	nieszczepiona control	2,05	0	10	86	96
6		szczepiona szczepem nr 14 inoculated with strain no 14	2,96	26	0	56	82
		Analiza w okresie kłoszenia owsa Analysis in heading period of oats					
1	Bez fosforu Without phosphorus	nieszczepiona control	2,54	5	28	22	55
2		szczepiona szczepem nr 13 inoculated with strain no. 13	3,26	0	35	13	48
3		szczepiona szczepem nr 14 inoculated with strain no 14	2,62	0	27	45	72
		Analiza w okresie pełnej dojrzałości owsa Analysis in full ripeness period of oats					
1	Bez fosforu Without phosphorus	nieszczepiona control	6,50	0	5	0	5
2		szczepiona szczepem nr 13 inoculated with strain no. 13	4,90	0	17[1]	4	21
		szczepiona szczepem nr 14 inoculated with strain no. 14	6,10	10[2]	0	5	15

[1] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i zdolnością rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 13.

[2] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i zdolnością rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 14.

[1] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 13.

[2] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 14.

w kombinacji szczepionej szczepem nr 13. Na mączce kostnej szczepienie nie spowodowało przyrostu plonu korzeni (tab. 23, plon korzeni).

Szczepienie nie wpłynęło na ogół na zwiększenie pobierania fosforu przez owies (tab. 23). Nieco silniejsze przyswajanie fosforu wystąpiło tylko u roślin na mączce kostnej przy zastosowaniu szczepu A-22. Zawartość fosforu w roślinach była w tej kombinacji około 12% wyższa, niż w kombinacji nieszczepionej (tab. 23, komb. nr 12).

Plon roślin na superfosfacie, jak i zawartość fosforu w plonie roślin, były znowu około 2—3 razy wyższe, niż w pozostałych kombinacjach (tab. 23, komb. nr 1).

Jak wykazują analizy mikrobiologiczne, użyte szczepy (nr 13 i 14) zachowały żywotność w glebie pod owsem do końca jego wegetacji. W okresie kłoszenia się roślin nie stwierdzono w glebie obecności komórek tych bakterii (tab. 24).

Doświadczenie z lnem. Schemat i warunki techniczne tego doświadczenia były na ogół takie same, jak w doświadczeniu z owsem. Natomiast przeprowadzono je później (1. VII — 19. IX), niż tamto doświadczenie.

Rośliny rozwijały się — z wyjątkiem roślin na superfosfacie — słabo i nierówno. W celu poprawienia wegetacji lnu, dokarmiono go po 25 dniach od skiełkowania 40 mg P_2O_5 na wazon, w postaci NaH_2PO_4. Dawka tego nawozu polepszyła nieco rozwój roślin.

Nieznaczną różnicę na korzyść roślin szczepionych w porównaniu z nieszczepionymi zauważono na tydzień przed zawiązywaniem pęków, na glebie bez nawożenia fosforem, przy szczepieniu szczepem nr 13. W kombinacji z apatytem, szczepionej szczepem nr 14 lub nr 13 rośliny były — począwszy od okresu pełnego kwitnienia — nieco lepsze, niż w kontrolnej, natomiast w kombinacjach z mączką kostną przy szczepieniu szczepem nr 14 — słabsze. Słabiej rozwijał się także len na glebie bez nawożenia fosforem, szczepionej szczepem A-22. Plon roślin podaje tab. 25.

Również i w tym doświadczeniu nie otrzymano istotnego przyrostu plonu roślin pod wpływem szczepienia. Tendencję zwyżkową plonu roślin notowano na glebie bez nawożenia fosforem wywołaną przez szczep nr 13 (tab. 25, komb. nr 2, 5), a także na glebie z apatytem pod wpływem szczepu nr 13 i nr 14 (tab. 25, komb. nr 3, 6, 9). Natomiast w kombinacji z mączką kostną, przy szczepieniu szczepem nr 14, lub na glebie bez nawożenia fosforem ze szczepem A-22 plon roślin był niższy (o 20%), niż w kombinacji kontrolnej (tab. 25, komb. nr 4, 10, 2, 11).

Plon korzeni (tab. 25) uległ na glebie bez nawożenia fosforem oraz na glebie z mączką kostną — w wyniku szczepienia — obniżeniu (16—31%). Na apatycie w seriach szczepionych stwierdzono zwyżkę plonu korzeni (26—38%). Oddziaływanie więc użytych szczepów na rozwój korzeni lnu zależałoby od rodzaju nawożenia fosforowego.

Tabela 25

Wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon lnu
Doświadczenie wazonowe na piasku gliniastym w roku 1955
The effect of inoculation with „phosphorus" bacteria upon the yield of flax
Pot experiment on loamy sand in the year 1955

Nr kombinacji No. of combination	Szczep Strain	Nawożenie fosforowe Phosphorus fertilizing	Plon p. s. m.[1] części nadziemnych w g na wazon Top air dry mass yield g per pot	Plon p. s. m. korzeni w g na wazon Root air dry mass yield g per pot	Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5			
					części nadziemne tops		korzenie roots	
					%	mg	%	mg
1		superfosfat superphosphate	13,09	3,82	0,560	73,3	0,238	9,1
2	Nieszczepiona	bez fosforu without phosphorus	4,79	1,19	0,494	23,7	0,264	3,1
3	Uninoculated	apatyt apatite	4,01	0,66	0,497	19,9	0,275	1,8
4		mączka kostna bone meal	5,32	1,27	0,451	24,0	0,265	3,4
5		bez fosforu						
	Szczepiona szczepem nr 13	without phosphorus	5,59	1,00	0,443	24,8	0,279	2,8
6	Inoculated with strain no. 13	apatyt apatite	4,49	0,83	0,463	20,8	0,280	2,3
7		mączka kostna bone meal	4,62	0,88	0,478	22,1	0,281	2,5
8		bez fosforu						
	Szczepiona szczepem nr 14	without phosphorus	4,40	0,88	0,443	19,5	0,275	2,4
9	Inoculated with strain no. 14	apatyt apatite	4,76	0,91	0,457	21,7	0,291	2,6
10		mączka kostna bone meal	4,32	1,00	0,443	19,1	0,296	3,0
11	Szczepiona szczepem „A-22"	bez fosforu without phosphorus	3,90	0,85	0,451	17,6	0,275	2,3
12	Inoculated with strain „A-22"	mączka kostna bone meal	5,44	1,01	0,409	22,2	0,285	2,9
13	Szczepiona mieszanką „A-22" + nr 14	bez fosforu without phosphorus	4,27	0,91	0,480	20,5	0,277	2,5
14	Inoculated with mixture of strain: „A-22" + no. 14	mączka kostna bone meal	5,44	1,05	0,420	22,8	0,306	3,2

Przedział ufności dla kombinacji
Interval of confidence for combinations 2—10 μt: 0,912 0,183

Przedział ufności dla kombinacji (z wyjątkiem kombinacji z apatytem)
Interval of confidence for combinations (except combinations with apatite) 2 - 14 μt: 1,097 0,241

Współczynnik ufności Confidence probability P = 0,95

[1] W okresie tworzenia nasion
In period of seed forming

Tabela 26

Ilości drobnoustrojów rozpuszczającym fosforany wapnia w piasku gliniastym pod lnem

Doświadczenie wazonowe w roku 1955

Amount of microorganisms dissolving calcium phosphates in loamy sand sown with flax

Pot experiment in the year 1955

L. p. O. n.	Szczep Strain	Kombinacja bez nawożenia fosforowego Combination without phosphorus fertilizing				
		ogólna ilość bakterii i promieniowców miliony w 1 g s. m. gleby total number of bacteria and actinomycetes millions per 1 g soil dry mass	% drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates			
			silnie strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
	Analiza — w 15 dniu po wschodach Analysis — on 15-th day after germination					
1	Nieszczepiona Uninoculated	3,82	0	0	37	37
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	2,83	0	52	20	72
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	4,30	23	14	5	42
	Analiza — w okresie zawiązywania pąków Analysis — in bud stage					
1	Nieszczepiona Uninoculated	7,90	0	4	0	4
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	7,40	0	12[1]	0	12
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	8,00	23[2]	0	9	32
	Analiza — w okresie dojrzewania Analysis — in ripening period					
1	Nieszczepiona Uninoculated	4,10	0	0	22	22
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	3,50	0	0	24	24
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	3,00	0	0	17	17

[1] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i zdolnością rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 13

[2] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i zdolnością rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 14

[1] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 13

[2] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 14

Szczepienie nie wpłynęło na zwiększenie pobrania fosforu przez len (tab. 25, zawartość P_2O_5).

Plon lnu na glebie z superfosfatem był około 2—3 razy wyższy, a ilość fosforu w plonie roślin — około 3—4 razy wyższa, niż na innych nawozach fosforowych (tab. 25, komb. nr 1).

Analizy mikrobiologiczne wykazały żywotność szczepów nr 13 i nr 14 w glebie pod lnem do okresu jego kwitnienia. Natomiast w czasie dojrzewania roślin rozwój tych bakterii uległ zahamowaniu (tab. 26).

Omówienie wyników doświadczeń z owsem i lnem na piasku gliniastym.

W doświadczeniach z owsem i lnem przeprowadzonych na piasku gliniastym szczepienie bakteriami „fosforowymi" nie wykazało wyraźniejszego dodatniego działania na plon tych roślin.

W niektórych kombinacjach notowano w wyniku szczepienia tylko tendencję zwyżkową plonu roślin. Przejawiła się ona m. in. u owsa na glebie z mączką kostną pod wpływem szczepienia mieszanką szczepów nr 14 i A-22 (tab. 23), lub u lnu na glebie bez nawożenia fosforem, przy szczepieniu szczepem nr 13 (tab. 25). Obok tego zaznaczył się w kombinacjach z mączką kostną spadek plonu owsa przy szczepieniu szczepem nr 13, oraz — plonu lnu pod wpływem szczepienia szczepem nr 14 (tab. 23, 25).

U owsa szczepienie spowodowało lepszy rozwój korzeni, natomiast u lnu korzenie były w seriach szczepionych na ogół słabsze, niż w kombinacji kontrolnej.

Zastosowane szczepionki nie wpłynęły na przyrost ilości fosforu w plonie roślin (tab. 23, 25).

Z analiz mikrobiologicznych można by sądzić, że szczepy nr 13 i nr 14 zachowały żywotność w glebie pod owsem i lnem, choć rozwój ich był uzależniony od fazy wegetacyjnej tych roślin. Wskazywałoby na to zahamowanie rozwoju tych bakterii w czasie kłoszenia owsa i dojrzewania lnu (tab. 24, 26).

3. Doświadczenia z owsem i lnem na piasku kwarcowym z dodatkiem kompostów torfowo-fosforytowych szczepionych bakteriami „fosforowymi" (1956)

W doświadczeniach przeprowadzonych w poprzednim roku wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon roślin zaznaczył się tylko w niektórych kombinacjach i był nieduży. Przypuszczać można, że przyczyną tego mógł być albo zbyt krótki okres konieczny do uruchomienia fosforu z mineralnych jego związków na drodze biologicznej, albo też szczepionki mogły być już od samego początku rozwoju roślin ich konkurentami w pobieraniu fosforu.

W związku z tym w roku 1956 usiłowano przygotować przed założeniem doświadczenia wazonowego nawóz organiczno-mineralny, który w wyniku działania szczepionek bakterii „fosforowych" byłby bogaty w przyswajalny fosfor. W ten sposób rozwój i działalność bakterii „fosforowych" poprzedziłyby rozwój roślin i asymilowanie przez nie fosforu. W tym celu zastosowano metodę kompostowania torfu z dodatkiem fosforytu.

Przygotowanie kompostów torfowo-fosforytowych. Komposty te przygotowano w wazonach Wagnera przy równoczesnym zastosowaniu niektórych szczepów rozpuszczających fosforany wapnia. Okres kompostowania torfu wynosił 3 miesiące (6. II — 3. V.), w temperaturze 15—18°.

Do kompostowania użyto torfu niskiego z warstwy wierzchniej. Właściwości fizyko-chemiczne tego podłoża ilustruje tab. 27.

Tabela 27

Właściwości fizyko-chemiczne torfu użytego do kompostowania

Physical and chemical characteristics of peat used in investigation

Głębokość pobrania próbki w cm Depth of taking sample in cm	Pojemność wodna Water capacity %	pH w KCl pH in KCl	Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5		Popiół w % s. m. torfu Ashes in % of peat dry mass	Substancja organiczna w % s. m. torfu Organic matter in % of peat dry mass
			przyswajalnego[1] mg w 100 g s. m. torfu available mg per 100 g peat dry mass	ogólnego w % s. m. torfu total in % of peat dry mass		
20	220	6,4	16,61	0,39	49,83	50,17

[1] Według metody Egnera

[1] According to Egner's method

Na 98,5 g torfu o 50% wilgotności dano 1,5 g krajowej mączki fosforytowej, zawierającej 200 mg fosforu ogólnego. Jako szczepionki zastosowano szczepy nr 13 lub nr 14, rozpuszczające fosforany wapnia, nadto mieszankę szczepów nr 14 i A-22, mineralizującego organiczne związki fosforu. Sądzono, że dodatkowe zastosowanie szczepu mineralizującego organiczne związki fosforu w podłożu torfowym powiększy w nim ilość przyswajalnego fosforu.

Wilgotność kompostowanego torfu utrzymywano na poziomie 52%, a w ostatnich dwóch tygodniach kompostowania na poziomie 70% maksymalnej pojemności wodnej. Po 41 dniach kompostowania torf przerobiono.

Po 64 i 87 dniach kompostowania torfu wykonano (z pomocą metody „kropelkowej") analizy mikrobiologiczne jego próbek dla stwierdzenia, jak w tym środowisku rozwijały się wprowadzone szczepy. Wyniki ilustruje tab. 28.

Tabela 28

Ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w kompostowanym torfie (oznaczone metodą „kropelkową")
Doświadczenie wazonowe w roku 1956

Amount of microorganisms dissolving calcium phosphates in peat compost
Pot experiment in the year 1956

L. p. O. n.	Szczep Strain	Torf bez nawozu fosforowego Peat without phosphorus fertilizing				Torf z fosforytem Peat with phosphorite			
		% drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates							
		bardzo silnie i silnie very strong and strong	średnie moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together	bardzo silnie i silnie very strong and strong	średnie moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
	Analiza — po 64 dniach kompostowania torfu Analysis — after 64 days of fermentation of peat								
1	Nieszczepiona Uninoculated	0	0	16	16	0	7	23	30
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	4	5	28	37	3	8	19	30
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	24	0	1	25	29	1	0	30
	Analiza — po 87 dniach kompostowania torfu Analysis — after 87 days of fermentation of peat								
1	Nieszczepiona Uninoculated	0	1	20	21	0	4	11	15
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	3	4	8	15	0	0	28	28
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	50	3	3	56	85	3	0	88

Z analiz mikrobiologicznych wynikałoby, że wprowadzone do torfu szczepy [1] nr 13 i 14, szczególnie ten ostatni, były żywotne w tym środowisku w okresie kompostowania.

Po skończonym kompostowaniu torfu przeanalizowano go także na zawartość przyswajalnego fosforu. Chodziło tu o stwierdzenie, w jakim stopniu podziała szczepienie na uruchomienie fosforu z fosforytu. Wyniki zamieszczono w tab. 29.

Tabela 29

Wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na zawartość przyswajalnego fosforu w torfie po 87 dniach jego kompostowania z fosforytem

The effect of inoculation with „phosphorus" bacteria upon the amount of available phosphorus in peat after 87 days of peat phosphorite fermentation

Lp. / O. n.	Kombinacje / Combinations	Zawartość przyswajalnego P_2O_5 [1]) mg w 100 g s. m. torfu / Amount of available P_2O_5 [1]) mg per 100 g peat dry mass	pH w KCl / pH in KCl
1	Torf nieszczepiony Uninoculated peat	13,07	6,3
2	Torf szczepiony szczepem nr 13 Peat + strain no. 13	15,95	6,2
3	Torf szczepiony szczepem nr 14 Peat + strain no. 14	13,85	6,3
4	Torf szczepiony szczepem nr 14 + „A-22" Peat + strain no. 14 + „A-22"	15,37	6,3
5	Torf z fosforytem nieszczepiony Uninoculated peat with phosphorite	67,85	6,3
6	Torf z fosforytem szczepiony szczepem nr 13 Peat with added phosphorite + strain no. 13	72,32	6,3
7	Torf z fosforytem szczepiony szczepem nr 14 Peat with added phosphorite + strain no. 14	70,07	6,3
8	Torf z fosforytem szczepiony szczepem nr 14 + „A-22" Peat with added phosphorite + strain no. 14 + „A-22"	76,07	6,4

[1]) Według metody Egnera

[1]) According to Egner's method

[1] W kompostowanym torfie nie sprawdzano żywotności szczepu A-22, mineralizującego organiczne związki fosforu.

Pod wpływem szczepienia bakteriami „fosforowymi" nastąpił, po 3 miesięcznym okresie kompostowania, w kompoście torfowo-fosforytowym przyrost przyswajalnego fosforu zaledwie o 2—4,5 mg P_2O_5 w 100 g s. m. kompostu, czyli o + 3—6%. W kompoście torfowo-fosforytowym, szczepionym mieszanką szczepów nr 14 i A-22, przyrost ten wynosił 8 mg P_2O_5 w 100 g s. m., czyli + 11%. Kwasowość torfu nie uległa zmianie pod wpływem szczepienia.

Zakładając doświadczenia wazonowe, użyto jako podstawowego podłoża piasku kwarcowego. Jako pożywkę dano na wazon: 0,7 g N pod owies i 0,5 g N pod len w postaci NH_4NO_3 i KNO_3, oraz 0,6 g K_2O w KNO_3 pod obie rośliny. Prócz tego dano pożywkę zawierającą mikroelementy oraz po 1 g $CaCO_3$ na wazon.

Zamiast nawozu fosforowego zastosowano kompost torfowo-fosforytowy w ilości 1,2% w stosunku do wagi piasku w wazonie (czyli po 111 g na wazon). Kombinacje z kompostami torfowo-fosforytowymi porównywano z kombinacjami: z mączką fosforytową, fosforanem trójwapniowym i superfosfatem, dodanymi do piasku w ilości 0,2 g P_2O_5 ogólnego.

Tak samo jak w poprzednim roku, roślinami doświadczalnymi były owies „Przebój I" i len „Śląski II".

Doświadczenie z owsem. Z tabeli 30 wynika, że dodatek kompostów torfowo-fosforytowych nie tylko nie wpłynął na zwiększenie plonu owsa (zebranego w czasie nalewania ziarna), ale spowodował nawet jego obniżenie (średnio dla kombinacji z dodatkiem kompostów o 24%), w porównaniu z plonem roślin na piasku bez żadnego nawożenia fosforem (tab. 30).

W początkowym okresie rozwoju owsa zauważono w kombinacjach z dodatkiem szczepionych kompostów (szczególnie z dodatkiem kompostu torfowo-fosforytowego szczepionego szczepem nr 13) lepszy rozwój roślin, niż z dodatkiem kompostów nieszczepionych lub z fosforytem (fot. rys. 35, 36). W późniejszym wieku roślin różnice te zatarły się, a pod koniec strzelania w źdźbło widoczny był nawet gorszy stan owsa na piasku z kompostowanymi torfami, w porównaniu z rozwojem roślin na piasku bez fosforu. W związku z tym dodano w tym czasie do wszystkich wazonów po 40 mg P_2O_5 w postaci $NaH_2PO_4 . 2H_2O$ oraz mikroelementy. Nawożenie to polepszyło rozwój roślin.

Dodatek kompostów torfowych wpłynął również na słabsze przyswajanie przez rośliny fosforu (o 3—5 mgr P_2O_5 mniej na wazon) i azotu (30—50 mg N mniej na wazon), w porównaniu z przyswajaniem fosforu i azotu na piasku kwarcowym bez nawożenia fosforem (tab. 30). Plony roślin i zawartość w nich fosforu i azotu wskazywałyby więc na ujemne działanie kompostów torfowych. Przyczyną tego były prawdopodobnie sorpcyjne właściwości kompostów torfowych.

Tabela 30

Wpływ dodatku kompostów torfowo-fosforytowych lub torfowych szczepionych bakteriami „fosforowymi" na plon owsa
Doświadczenie wazonowe na piasku kwarcowym w roku 1956

The effect of added peat phosphorite compost or peat compost, inoculated with „phosphorus" bacteria, upon the yield of oats
Pot experiment on sand in the year 1956

Nr komb. No. of comb.	Kombinacje Combinations	Plon ogólny p. s. m. części nadziemnych g na wazon Top air dry mass total yield g per pot	Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5		Zawartość N Amount of N	
			%	mg na wazon mg per pot	%	mg na wazon mg per pot
1	Superfosfat Superphosphate	42,88	0,255	107,0	1,071	451
2	Fosforyt Phosphorite	13,85	0,218	30,2	1,503	208
3	Fosforan trójwapniowy Calcium triphosphate	15,30	0,220	33,7	1,441	220
4	Bez fosforu Without phosphorus	14,22	0,186	26,4	1,483	211
5	Kompost torfowy Peat compost	10,26	0,215	22,1	1,581	162
6	Kompost torfowy szczepiony szczepem nr 13 Peat compost inoculated with strain no. 13	10,55	0,214	22,6	1,488	157
7	Kompost torfowy szczepiony szczepem nr 14 Peat compost inoculated with strain no. 14	10,66	0,197	21,0	1,591	170
8	Kompost torfowy z fosforytem Peat compost with phosphorite	10,84	0,228	24,7	1,591	172
9	Kompost torfowy z fosforytem szczepiony szczepem nr 13 Peat compost with phosphorite + strain no. 13	11,28	0,203	22,9	1,484	167
10	Kompost torfowy z fosforytem szczepiony szczepem nr 14 Peat compost with phosphorite + strain no. 14	10,83	0,247	26,8	1,665	180

Przedział ufności Interval of confidence μt: 1,84

Współcz. ufności Confidence probability P = 0,95

Doświadczenie z owsem na piasku kwarcowym z dodatkiem kompostów torfowych lub torfowo-fosforytowych (1956)

Experiment with oats on sand with added peat composts or phosphorite peat composts (1956)

Rys. 35. nr 19 — dodatek kompostu torfowego nieszczepionego; nr 24 — dodatek kompostu torfowego szczepionego szczepem nr 13; nr 25 — dodatek kompostu torfowego szczepionego szczepem nr 14

Fig. 35. no. 19 — uninoculated peat compost; no. 24 — inoculated with strain no. 13 peat compost; no. 25 — inoculated with strain no. 14 peat compost

Rys. 36. nr 32 — dodatek kompostu torfowo-fosforytowego nieszczepionego; nr 33 — dodatek kompostu torfowo-fosforytowego szczepionego szczepem nr 13; nr 38 — dodatek kompostu torfowo-fosforytowego szczepionego szczepem nr 14

Fig. 36. no. 32 — uninoculated phosphorite peat compost; no. 33 — inoculated with strain no. 13 phosphorite peat compost; no. 38 — inoculated with strain no. 14 phosphorite peat compost

Tabela 31

Wpływ dodatku kompostów torfowo-fosforytowych lub torfowych szczepionych bakteriami „fosforowymi" na plon lnu
Doświadczenie wazonowe na piasku kwarcowym w roku 1956

The effect of added peat phosphorite compost or peat compost, inoculated with „phosphorus" bacteria, upon the yield of flax
Pot experiment on sand in the year 1956

Nr komb. No. of comb.	Kombinacje Combinations	Plon ogólny p. s. m. części nadziemnych g na wazon Top air dry mass total yield g per pot	Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5		Zawartość N Amount of N	
			%	mg na wazon mg per pot	%	mg na wazon mg per pot
1	Superfosfat Superphosphate	23,61	0,187	44,2	1,238	292
2	Fosforyt Phosphorite	2,57	0,186	4,8	2,207	57
3	Fosforan trójwapniowy Calcium triphosphate	3,35	0,188	6,3	2,212	74
4	Bez fosforu Without phosphorus	2,91	0,174	5,1	2,126	62
5	Kompost torfowy Peat compost	1,92	0,197	3,8	2,408	46
6	Kompost torfowy szczepiony szczepem nr 13 Peat compost inoculated with strain no. 13	2,76	0,191	5,3	2,419	67
7	Kompost torfowy szczepiony szczepem nr 14 Peat compost inoculated with strain no. 14	2,38	0,178	4,2	2,302	55
8	Kompost torfowy z fosforytem Peat compost with phosphorite	2,65	0,191	5,1	2,371	63
9	Kompost torfowy z fosforytem szczepiony szczepem nr 13 Peat compost with phosphorite + strain no. 13	2,73	0,190	5,2	2,247	61
10	Kompost torfowy z fosforytem szczepiony szczepem nr 14 Peat compost with phosphorite + strain no. 14	2,33	0,180	4,2	2,409	56

Przedział ufności
Interval of confidence μt: 0,51

Współcz. ufności
Confidence probability P = 0,95

Doświadczenie z lnem. Jak widać z tab. 31 otrzymane plony lnu (zebranego w czasie zawiązywania nasion) były w ogóle bardzo niskie, z wyjątkiem kombinacji z superfosfatem. Dodatek kompostów torfowo-fosforytowych i z samego torfu spowodował, podobnie jak w doświadczeniu z owsem, obniżenie plonu roślin (średnio dla kombinacji z dodatkiem kompostów o 15%), w porównaniu z plonem kontrolnym bez nawożenia fosforem.

Zawartość fosforu i azotu w plonie roślin na piasku z kompostami torfowymi nie różniła się na ogół od zawartości tych składników w roślinach kontrolnych (tab. 31).

Omówienie wyników doświadczeń z kompostami torfowo-fosforytowymi.

W kompostowanych torfach z dodatkiem fosforytu nastąpił po upływie 3 miesięcy pod wpływem szczepienia bakteriami „fosforowymi" drobny przyrost ilości przyswajalnego fosforu (3—11% wg metody Egnera, tab. 29). Z analiz mikrobiologicznych wynikałoby, że w środowisku tym zastosowane szczepionki były żywotne w czasie kompostowania (tab. 28).

Zastosowane w doświadczeniach wazonowych 3 miesięczne komposty torfowo-fosforytowe wpłynęły ujemnie na końcowy plon owsa, mimo ich dodatniego wpływu w początkowym okresie rozwoju roślin (tab. 30, fot. rys. 35, 36). U lnu to niekorzystne działanie kompostów przejawiło się w plonie końcowym w stopniu słabszym, niż u owsa (tab. 31). Niekorzystny wpływ użytych kompostów na plon roślin był prawdopodobnie spowodowany ich właściwościami sorpcyjnymi.

Superfosfat działał na plony obu roślin zdecydowanie lepiej niż nierozpuszczalne nawozy fosforowe zastosowane wprost lub w kompostach (tab. 30, 31).

4. Doświadczenia z owsem i lnem na torfie (1956)

Równocześnie z doświadczeniami z kompostami torfowo-fosforytowymi wykonano także doświadczenie z lnem i owsem na samym torfie. Pojemność wodna użytego torfu wynosiła około 150%, pH w KCl — 6,0, a ilość przyswajalnego fosforu w 100 g s. m. (wg Egnera) — około 15 mg. Torf ten więc swoimi właściwościami zbliżał się do torfu, z którego przygotowano komposty (patrz tab. 27).

Wazony Wagnera napełniono 5 kg torfu o wilgotności 37%. Pożywka podstawowa na wazon zawierała: 0,18 g N i 0,6 g K_2O w KNO_3, nadto mikroelementy: H_3BO_3 — 0,005 g, $MnSO_4$ — 0,005 g, NaCl — 0,005 g, $ZnSO_4$ — 0,00015 g, $CuSO_4$ — 0,0002 g, $Na_2MoO_4(MoO_3 \cdot H_2O)$ — 0,0005 g.

Fosfor stosowano w ilości 0,2 g P_2O_5 ogólnego na wazon w postaciach: mączka fosforytowa (1,5 g na wazon), fosforan trójwapniowy (0,4 g na wazon) i superfosfat (1 g na wazon).

Tabela 32

Wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon owsa
Doświadczenie wazonowe na torfie w roku 1956

The effect of inoculation with „phosphorus" bacteria upon the yield of oats
Pot experiment on peat in the year 1956

Nr komb. No. Comb.	Kombinacje Combinations	Plon p. s. m. części nadziemnych g na wazon Top air dry mass yield g per pot			Zawartość P_2O_5. Amount of P_2O_5					Zawartość N Amount of N				
					nasiona seeds		słoma straw		razem together	nasiona seeds		słoma straw		razem together
		nasiona seeds	słoma straw	razem together	%	mg[1]	%	mg	mg	%	mg	%	mg	mg
1	Superfosfat Superphosphate	7,98	10,82	18,80	0,645	51,5	0,033	3,6	55,1	1,553	124	0,263	28	152
2	Fosforan trójwapniowy Calcium triphosphate	2,98	5,14	8,08	0,633	18,9	0,049	2,5	21,4	2,210	66	0,579	30	96
3	Bez nawozu fosforowego Without phosphorus firtilizing	2,09	3,85	5,94	0,537	11,2	0,045	1,7	12,9	2,167	45	0,568	22	67
4	Bez nawozu fosforowego + szczep nr 13 Without phosphorus firtilizing + strain no. 13	1,74	3,51	5,25	0,596	10,4	0,047	1,6	12,0	2,376	41	0,537	19	60
5	Bez nawozu fosforowego + szczep nr 14 Without phosphorus firtilizing + strain no. 14	2,33	4,15	6,48	0,606	14,1	0,056	2,3	16,4	2,280	53	0,638	26	79

6	Bez nawozu fosforowego + szczep nr 1a/14 Without phosphorus firtilizing + strain no. 1a/14	2,67	4,14	6,81	0,560	14,9	0,043	1,8	16,7	2,160	57	0,545	23	80
7	Bez nawozu fosforowego + Fosforobakteryna Without phosphorus firtilizing + *Bac. megatherium phosphaticum*	2,24	4,15	6,39	0,527	11,8	0,056	2,3	14,1	2,416	54	0,620	26	80
8	Fosforyt Phosphorite	2,05	3,98	6,03	0,616	12,6	0,053	2,1	14,7	2,362	48	0,634	25	73
9	Fosforyt + szczep nr 13 Phosphorite + strain no. 13	2,46	4,69	7,15	0,573	14,1	0,041	1,9	16,0	2,251	55	0,584	27	82
10	Fosforyt + szczep nr 14 Phosphorite + strain no. 14	2,93	5,13	8,06	0,614	18,0	0,039	2,0	20,0	2,388	70	0,604	31	101

Przedział ufności (dla komb. 2—10)
Interval of confidence (for comb. 2—10)
μ t: 1,156 0,939 1,717

Współcz. ufności
Confidence probability
P = 0,95

[1] mg na wazon
[1] mg per pot

Owies („Przebój I") i len („Śląski II") zasiano 11. V. Rośliny zaszczepiono bakteriami „fosforowymi" po wschodach, wprowadzając do wazonów po 50 ml zawiesiny bakteryjnej, zawierającej w sumie około 200—600 milionów komórek.

Obok szczepów nr 13 i nr 14, rozpuszczających fosforany wapniowe, użyto w tych doświadczeniach szczepów mineralizujących organiczne związki fosforu: 1a/14 i stosowaną w ZSRR Fosforobakterynę. Schemat doświadczenia podano w tab. 32.

Wilgotność torfu utrzymywano w okresie wegetacji na poziomie 70% maksymalnej pojemności wodnej.

Rośliny ścięto w czasie ich pełnej dojrzałości.

Doświadczenie z owsem. W czasie wegetacji zauważono w tym doświadczeniu, począwszy od fazy czwartego listka, lepszy stan roślin na torfie z fosforytem szczepionym szczepem nr 13 lub 14. Różnice te utrzymały się do końca wegetacji, co potwierdzają końcowe plony przedstawione w tab. 32.

Jak wynika z przytoczonych zestawień, na torfie z fosforytem szczepionym szczepem nr 14 zaznaczył się istotny przyrost plonu roślin (w plonie ogólnym o 25%), w porównaniu z kombinacją nie szczepioną (tab. 32). Przyrost plonu roślin był w tej kombinacji zbliżony do przyrostu plonu na torfie nawożonym fosforanem trójwapniowym. Na torfie z fosforytem szczepionym szczepem nr 13 przyrost plonu owsa wynosił 19%. Zwyżka [1] ta nie była jednak statystycznie udowodniona (tab. 32).

Zawartość fosforu i azotu w roślinach była większa pod wpływem szczepienia szczepem nr 14 na torfie z fosforytem o około 25%, niż w kombinacji z fosforytem nieszczepionej. W tych samych warunkach przyrost ilości fosforu w plonie owsa, w wyniku szczepienia szczepem nr 13, wynosił tylko około 9%, a azotu 12% (tab. 32).

Na torfie bez nawożenia fosforem zarówno szczepy nr 13 i 14 — rozpuszczające fosforany wapnia — jak i szczepy 1a/14 i Fosforobakteryna — mineralizujące organiczne związki fosforu — nie wpłynęły na plon owsa.

Na superfosfacie plon owsa i zawartość fosforu i azotu w roślinach były jak zwykle parokrotnie wyższe, niż w innych kombinacjach.

Z analiz mikrobiologicznych wynikałoby, że zastosowane jako szczepionki szczepy bakterii nr 13 i nr 14, szczególnie ten ostatni, dobrze rozwijały się w torfie pod owsem (tab. 33).

Doświadczenie z lnem. Tabela 34 wskazuje na brak dodatniego działania szczepionek bakterii „fosforowych" na plon lnu na torfie. Fosforobakteryna, która w doświadczeniach radzieckich okazywała dodatni wpływ na plon roślin, w naszym doświadczeniu nie dała wyników.

[1] Wskutek nierównych plonów w poszczególnych powtórzeniach tej kombinacji była ona obciążona dużym błędem; średnie bowiem odchylenie w tej kombinacji wynosiło: dla ziarna ± 0,98, dla słomy ± 0,92, dla plonu ogólnego ± 1,90.

Tabela 33

Ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w torfie pod owsem (oznaczone metodą „kropelkową")
Doświadczenie wazonowe w roku 1956

Amount of microorganisms dissolving calcium phosphates in peat sown with oats
Pot experiment in the year 1956

L. p. O. n.	Szczep Strain	Torf Peat — % drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms disselving calcium phosphates				Torf z fosforytem Peat with phosphorite — % drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms disselving calcium phosphates			
		bardzo silnie i silnie very strong and strong	średnie moderate	słabe i bardzo słabo slight and very slight	razem together	bardzo silnie i silnie very strong and strong	średnie moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	razem together
	Analiza I[1] — w okresie dojrzałości mlecznej owsa Analysis I[1] — at the beginning of seed milk stage of oats								
1	Nieszczepiona Uninoculated	0	12	7	19	0	3	64	67
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	16	28	56	100	0	7	33	40
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	22	8	44	74	12	10	67	89
	Analiza II — w okresie pełnej dojrzałości owsa Analysis II — in full ripeness period of oats								
1	Nieszczepiona Uninoculated	3	18	19	40	0	0	36	36
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	0	12	23	35	13	8	22	43
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	17[2]	10	30	57	14[2]	5	25	44

[1] Wyniki analizy I mają — z uwagi na dużą ilość kolonii grzybów na płytkach — charakter orientacyjny

[2] Kolonie drobnoustrojów były podobne wyglądem i stopniem uzdolnienia do rozpuszczania fosforanów wapnia do szczepu nr 14

[1] Analysis results are only approximate in view of great number of fungi colonies on agar culture medium

[2] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 14

Tabela 34

Wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon lnu

Doświadczenie wazonowe na torfie w roku 1956

The effect of inoculation with „phosphorus" bacteria upon the yield of flax
Pot experiment on peat in the year 1956

Nr komb. No. of. comb.	Kombinacje Combinations	Plon p. s. m. części nadziemnych g na wazon Top air dry mass yield g per pot			Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5					Zawartość N Amount of N				
					nasiona seeds		słoma straw		razem together	nasiona seeds		słoma straw		razem together
		nasiona seeds	słoma straw	razem together	%	mg[1]	%	mg	mg	%	mg	%	mg	mg
1	Superfosfat Superphosphate	3,79	13,13	16,92	1,150	43,6	0,139	18,2	61,8	3,633	138	0 605	79	217
2	Fosforan trójwapniowy Calcium triphosphate	1,87	6,81	8,69	0,785	14,7	0,106	7,2	21,9	4,172	78	1,162	79	157
3	Bez nawozu fosforowego Without phosphorus fertilizing	1,29	5,34	6,63	0,772	10,0	0,102	5,4	15,4	4,183	54	1,113	59	113
4	Bez nawozu fosforowego + szczep nr 13 Without phosphorus fertilizing + strain no. 13	1,30	4,92	6,22	0,790	10,3	0,112	5,5	15,8	4,155	54	1,343	66	120
5	Bez nawozu fosforowego + szczep nr 14 Without phosphorus fertilizing + strain no. 14	1,36	4,95	6,31	0,821	11,2	0,104	5,1	16,3	4,178	57	1,274	63	120

6	Bez nawozu fosforowego + szczep 1a/14 Without phosphorus fertilizing + strain 1a/14	1,03	4,13	5,16	0,761	7,8	0,116	4,8	12,6	4,068	42	1,438	59	99
7	Bez nawozu fosforowego + Fosforobakteryna Without phosphorus fertilizing + *Bac. megatherium phosphaticum*	1,32	4,66	5,98	0,810	10,7	0,110	5,1	15,8	4,162	55	1,182	55	110
8	Fosforyt Phosphorite	1,71	6,03	7,74	0,810	13,9	0,127	7,7	21,6	4,056	69	1,205	73	142
9	Fosforyt + szczep nr 13 Phosphorite + strain no. 13	1,43	4,99	6,42	0,807	11,5	0,106	5,3	16,8	4,118	59	1,193	60	119
10	Fosforyt + szczep nr 14 Phosphorite + strain no. 14	1,38	4,98	6,36	0,792	10,9	0,100	5,0	15,9	4.059	56	1,242	62	118
Przedział ufności (dla komb. 2—10) Interval of confidence (for comb. 2—10)		μt: 0,407	1,207	1,600										

Współczynnik ufności
Confidence probability $P = 0,95$

[1] mg na wazon

[2] mg per pot

W czasie wegetacji lnu nie zauważono także korzystnego działania szczepionek na rozwój roślin.

Szczepienie bakteriami „fosforowymi" zmniejszyło ilość fosforu i azotu w plonie roślin. Na torfie z fosforytem szczepionym szczepem nr 13 lub nr 14 zawartość fosforu w plonie lnu była niższa o 22—26%, a azotu o około 16% (przeciwnie niż w tych samych warunkach u owsa), w porównaniu z kombinacją kontrolną.

W nieszczepionej kombinacji z fosforanem trójwapniowym plon lnu był o 21% wyższy, niż w kombinacji bez nawożenia fosforowego. Wyższa była także u roślin tej kombinacji zawartość fosforu, a zwłaszcza azotu (tab. 34).

Na superfosfacie plon lnu, jak i zawartość fosforu w plonie roślin były jak zawsze parokrotnie wyższe, niż w pozostałych kombinacjach.

W torfie pod lnem, w czasie jego dojrzałości, stwierdzono obecność dużej ilości komórek szczepów nr 13 oraz nr 14. Na tej podstawie można by sądzić, że drobnoustroje te znalazły w tym środowisku dogodne warunki dla swojego rozwoju (tab. 35, fot. rys. 37—42).

Omówienie wyników doświadczeń z owsem i lnem na torfie.

W doświadczeniu z owsem istotny przyrost plonu roślin (25%) uzyskano tylko na torfie z fosforytem pod wpływem szczepienia go szczepem nr 14. Równocześnie z tym stwierdzono w plonie roślin tej kombinacji wyższą zawartość fosforu i azotu. Działanie szczepu nr 13 było w tych samych warunkach słabsze (tab. 32). Jednakże na tle plonu na superfosfacie, otrzymany przyrost plonu owsa na fosforycie, pod wpływem szczepienia tymi bakteriami, był nie duży.

W doświadczeniu z lnem szczepienie bakteriami „fosforowymi" nie wykazało dodatniego działania. Na torfie z fosforytem szczepionym szczepem nr 13 lub nr 14 wystąpiła nawet tendencja zniżkowa plonu roślin (statystycznie nie istotna). Zawartość fosforu i azotu w plonie lnu była w tych kombinacjach o 16—26% niższa, niż w kombinacji kontrolnej (tab. 34).

Szczepy mineralizujące organiczne związki fosforu: 1a/14 i Fosforobakteryna nie wpłynęły na wysokość plonu owsa i lnu (tab. 32, 34).

Wyniki analiz mikrobiologicznych wskazywałyby na dobry rozwój szczepów nr 13 i nr 14, zwłaszcza tego ostatniego, w torfie pod lnem i owsem (tab. 33, 35, fot. rys. 37—42).

5. Doświadczenia z terminami stosowania szczepionek szczepów bakterii nr 13 i nr 14 (1957).

W doświadczeniach tych zamierzano poznać, w jakim stopniu skuteczność działania szczepionek bakterii „fosforowych" może być zależna od terminu ich stosowania tj. przedsiewnie, w czasie siewu, lub już po wschodach roślin.

Tabela 35

Ilości drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia w torfie pod lnem (oznaczone metodą „kropelkową") Doświadczenie wazonowe w roku 1956

Amount of microorganisms dissolving calcium phosphates in peat sown with flax Pot experiment in the year 1956

L. p. O.n.	Szczep Strain	Torf Peat — % drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates				Torf z fosforytem Peat with phosphorite — % drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia % of microorganisms dissolving calcium phosphates			
		b. silnie i silnie very strong and strong	średnio moderate	słabo i b. słabo slight and very slight	razem together	b. silnie i silnie very strong and strong	średnio moderate	słabo i b. słabo slight and very slight	razem together
	Analiza I[1] — w okresie zawiązywania pąków Analysis I[1] — in bud stage								
1	Nieszczepiona Uninoculated	pożywka porośnięta grzyb. on culture medium — strong growth of fungi				0	12	32	44
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	1	3	32	36	0	4	16	20
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	24	7	19	50	13	4	76	93
	Analiza II — w okresie pełnej dojrzałości Analysis II — in full ripeness period								
1	Nieszczepiona Uninoculated	0	1	27	28	0	0	61	61
2	Szczepiona szczepem nr 13 Inoculated with strain no. 13	11[2]	19	19	49	8[2]	19	22	49
3	Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	29[3]	0	9	38	46[3]	0	29	75

[1] Wyniki analizy I mają — z uwagi na dużą ilość kolonii grzybów na płytkach — charakter orientacyjny

[2] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i stopniem uzdolnienia do rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 13

[3] Kolonie drobnoustrojów wyglądem i stopniem uzdolnienia do rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 14

[1] Analysis results are only approximate in view of great number of fungi colonies on agare culture medium

[2] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 13

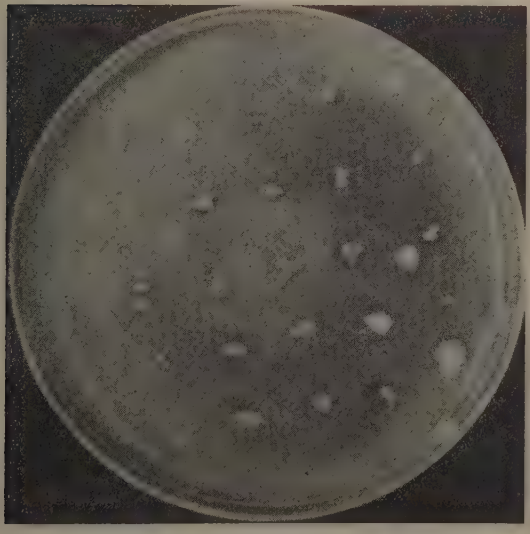
[3] The colonies of microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 14

Żywotność szczepionek w torfie pod lnem po jego sprzęcie
Vitality of introduced strains in peat sown with flax after its harvest

Rys. 37. Torf nieszczepiony
Fig. 37. Uninoculated peat

Rys. 38. Torf szczepiony szczepem nr 13
Fig. 38. With strain no. 13 inoculated peat

Rys. 39. Torf szczepiony szczepem nr 14
Fig. 39. With strain no. 14 inoculated peat



Rys. 40. Torf z fosforytem nieszczepiony
Fig. 40. Uninoculated peat + phosphorite

Rys. 41. Torf z fosforytem szczepiony szczepem nr 13
Fig. 41. With strain no. 13 inoculated peat + phosphorite

Rys. 42. Torf z fosforytem szczepiony szczepem nr 14
Fig. 42. With strain no. 14 inoculated peat + phosphorite

Doświadczenie z owsem na glebie przytorfowej (murszu). Jako podłoża użyto gleby przytorfowej, zawierającej 85,5% (wagowo) części mineralnych. Całkowita pojemność wodna tej gleby wynosiła 96%, a pH wg Helliga = 6,0.

Rośliną doświadczalną był owies „Przebój I".

Schemat doświadczenia przedstawiał się następująco:

L. p.	Kombinacje
1	Bez fosforu
2	Fosforyt nieszczepiony
3	Fosforyt + szczep nr 13 — wprowadzony do gleby na 1 miesiąc przed siewem
4	Fosforyt + szczep nr 13 — użyty przez zakażenie ziarna
5	Fosforyt + szczep nr 13 — wprowadzony do gleby 10-go dnia po wschodach
6	Fosforyt + szczep nr 14 — wprowadzony do gleby na 1 miesiąc przed siewem
7	Fosforyt + szczep nr 14 — użyty przez zakażenie ziarna
8	Fosforyt + szczep nr 14 — wprowadzony do gleby 10-go dnia po wschodach

Pożywka podstawowa dawana na wazon zawierała 0,18 g N i 0,6 g K_2O w KNO_3, nadto mikroelementy. W fazie 2 listka dokarmiono prócz tego rośliny azotem 0,5 g N jako $(NH_4)_2SO_4$.

Fosfor zastosowano w postaci krajowej mączki fosforytowej zawierającej 15,55% P_2O_5 ogólnego, stosując ją w ilości odpowiadającej 0,8 g P_2O_5 na wazon, czyli 5,14 g mączki fosforytowej.

Glebę lub nasiona szczepiono wodnymi zawiesinami szczepów nr 13 i nr 14. Zawiesiny tych bakterii przygotowywano z 3—5-dniowych hodowli na agarowych pożywkach. Terminy i sposób stosowania szczepionek przedstawiono w tab. 36.

Wazony po napełnieniu ich glebą, umieszczono na okres 1 miesiąca (13. IV.—14. V.) w szklarni, dla stworzenia dobrych warunków działania szczepionki, po czym przeniesiono je do hali wegetacyjnej i obsiano owsem (15. V).

Wilgotność gleby utrzymywano zarówno przed siewem roślin, jak w czasie ich wegetacji, na poziomie 60% nasycenia całkowitej pojemności wodnej.

W omawianym doświadczeniu, jak wynika z tab. 37, szczep nr 14 wpłynął w większym stopniu na przyrost plonu owsa, niż szczep nr 13, przy czym efekt działania obu tych szczepów był uzależniony od terminu ich stosowania. A mianowicie — szczep nr 14 spowodował zwyżkę (około 10%) plonu roślin przy szczepieniu gleby na 1 miesiąc przed siewem

Tabela 36

Terminy i sposób stosowania szczepionek bakterii „fosforowych"

Dates and way of inoculation with „phosphorus" bacteria

Termin stosowania szczepionek Dates of inoculation	Ilość szczepionki Amount of applied bacteria water suspension	Ilość komórek w szczepionce w milionach Number of bacteria cells in applied water suspension		Sposób stosowania szczepionek Way of inoculation
		szczep nr 13 strain no. 13	szczep nr 14 strain no. 14	
1 miesiąc przed siewem (13. IV) 1 month before sowing (13. IV)	50 ml na 1 wazon 50 ml per pot	18 000	8 000	po zwilżeniu szczepionką gleby — mieszanie gleby moistening of soil with bacteria suspension — afterwards mixing of soil
W czasie siewu (15. V) In sowing time (15. V)	25 ml na około 400 nasion 25 ml for about 400 seeds	13 000	14 000	zwilżanie ziarna moistening of seeds
10 dni po wschodach roślin w fazie 2 listka (30. V) 10 days after plant germination (30. V)	50 ml na 1 wazon 50 ml per pot	4 800	4 400	zwilżanie szczepionką gleby w wazonie przez polewanie z góry top watering of soil with bacteria suspension

roślin, lub wskutek zakażenia nasion. Zastosowanie tego szczepu po wschodach roślin nie dało wyników. Wpływ szczepu nr 13 był słabszy. Nie duży przyrost (6—8%) plonu owsa otrzymano przy szczepieniu tym szczepem ziarna lub roślin po ich wschodach, natomiast przedsiewne szczepienie gleby okazało się bezskuteczne.

Żadna z użytych szczepionek nie wpłynęła na zwiększenie ilości fosforu pobranego przez rośliny (tab. 37).

Doświadczenie z owsem na glebie przytorfowej z dodatkiem obornika. Schemat i warunki założenia tego doświadczenia były takie same jak w poprzednio omówionym, z wyjątkiem tego, że zamiast pożywki podstawowej (azot, potas, mikroelementy) dodano na wazon po 100 g 3-letniego obornika. Do zastosowania obornika zachęciły nas wyniki doświadczeń wegetacyjnych Bieriozowej i współp. (1956), w których na torfie z fosforytem w obecności obornika stwierdzono dodatni wpływ szczepienia bakteriami „fosforowymi" na plon owsa.

Pod koniec krzewienia dokarmiono rośliny 150 mg azotu na wazon, w postaci $(NH_4)_2SO_4$, ponieważ wygląd roślin wskazywał wtedy na ich głód azotowy.

Wielkość zebranych plonów podano w tab. 38.

Jak widać z przytoczonych danych szczepy nr 13 i nr 14 nie wykazały w tym doświadczeniu wyraźniejszego działania. Drobną tendencję zwyżkową plonu ogólnego (+ 5—7%) notowano w kombinacjach, w których szczepiono ziarno lub rośliny dopiero po ich wschodach.

Omówienie wyników doświadczeń z terminami stosowania szczepionek szczepów nr 13 i nr 14

W doświadczeniu z owsem na glebie przytorfowej skuteczność działania zastosowanych szczepów nr 13 i nr 14 była słaba. Zależała ona przy tym od terminu szczepienia roślin. Szczep nr 14 przejawił dodatnie działanie na przyrost plonu roślin (około 10%) przy szczepieniu gleby na 1 miesiąc przed siewem, lub przy szczepieniu nasion w chwili ich wysiewu. Szczep nr 13 wykazał jeszcze słabszy wpływ na plon owsa (przyrost plonu o 6—8%). Działał najkorzystniej przy szczepieniu nasion lub roślin po ich wschodach (tab. 37).

Szczepienie nie wpłynęło na zwiększenie pobrania fosforu przez rośliny (tab. 37).

Przy dodatku obornika do gleby przytorfowej nie notowano wpływu na plon owsa żadnego z użytych szczepów, niezależnie od terminu ich stosowania (tab. 38).

Doświadczenie z łubinem na glebie przytorfowej. Równocześnie z omówionymi doświadczeniami założono w 2 kombinacjach doświadczenie orientacyjne z łubinem. Celem jego było przekonanie się:

a) jak będzie się rozwijał szczep nr 14 wyodrębniony w roku 1954 z korzeni łubinu w warunkach odpowiadających jego pochodzeniu, a więc na korzeniach tej samej rośliny,

b) jaki będzie wpływ tego szczepu na uruchamianie fosforu z fosforytu krajowego i co zatem idzie, na plon łubinu.

Pożywka z nawożeniem podstawowym stosowanym na wazon zawierała 0,6 g K_2O w postaci K_2SO_4 oraz mikroelementy. Dawka mączki fosforytowej, tak samo jak w doświadczeniach z owsem, wynosiła 5,14 g na wazon (0,8 g P_2O_5).

Szczepionkę przygotowaną z hodowli szczepu nr 14 wprowadzono do gleby na 1 miesiąc przed siewem nasion. Nadto nasiona łubinu przed wysiewem zakażono bakteriami brodawkowymi.

Wyniki doświadczenia zebrano w tab. 39.

Tabela 37

Wpływ terminu stosowania szczepionek bakterii „fosforowych" na plon owsa
Doświadczenie wazonowe na glebie przytorfowej w roku 1957

The effect of inoculation date with „phosphorus" bacteria strains upon the yield
Pot experiment on muck soil in the year 1957

Nr komb. No. of comb.	Kombinacje Combinations	Plon powietrznie suchej masy Air dry mass yield			Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5				
		słoma straw	nasiona seeds	razem together	w słomie in straw		w nasionach in seeds		razem together
		g na wazon g per pot			%	mg na wazon mg per pot	%	mg na wazon mg per pot	mg na wazon mg per pot
1	Bez fosforu Without phosphorus	22,76	18,82	41,58	0,054	12,3	0,715	134,6	146,9
2	Fosforyt Phosphorite	21,89	18,25	40,14	0,068	14,9	0,826	150,7	165,6
3	Fosforyt + szczep nr 13 — 1 miesiąc przed siewem Phosphorite + strain no. 13 — 1 month before sowing time	21,59	18,18	39,77	0,054	11,7	0,755	137,3	149,0
4	Fosforyt + szczep nr 13 — przez zakażenie nasion Phosphorite + strain no. 13 — seed inoculation	23,45	19,29	42,74	0,050	11,7	0,755	145,6	157,0

5	Fosforyt + szczep nr 13 — 10 dni po wschodach Phosphorite + strain no. 13 — 10 days after germination	23,79	19,48	43,27	0,078	18,6	0,765	149,0	167,6
6	Fosforyt + szczep nr 14 — 1 miesiąc przed siewem Phosphorite + strain no. 14 — 1 month before sowing time	24,50	19,65	44,15	0,047	11,5	0,711	139,7	151,2
7	Fosforyt + szczep nr 14 — przez zakażenie nasion Phosphorite + strain no. 14 — seed inoculation	24,49	19,61	44,10	0,065	15,9	0,740	145,1	161,0
8	Fosforyt + szczep nr 14 — 10 dni po wschodach Phosphorite + strain no. 14 — 10 days after germination	22,92	18,30	41,22	0,070	16,0	0,781	142,9	158,9
	Przedział ufności: Interval of confidence:	1,408	1,133	2,175					

Tabela 38

Wpływ terminu stosowania szczepionek bakterii „fosforowych na plon owsa
Doświadczenie wazonowe na glebie przytorfowej z obornikiem w roku 1957

The effect of inoculation date with „phosphorus" bacteria strains upon the yield of oats
Pot experiment on muck soil with manure in the year 1957

Nr komb. No. of comb.	Kombinacje Combinations	Plon powietrznie suchej masy Air dry mass yield			Zawartość P_2O_5 Amount of P_2O_5				
		słoma straw	nasiona seeds	razem together	w słomie in straw		w nasionach in seeds		razem together
		g na wazon g per pot			%	mg na wazon mg per pot	%	mg na wazon mg per pot	mg na wazon mg per pot
1	Bez fosforu Without phosphorus	13,12	11,45	24,57	0,103	13,5	0,946	108,3	121,8
2	Obornik Manure	14,66	11,90	26,56	0,269	39,4	0,984	117,1	156,5
3	Obornik + fosforyt Manure + phosphorite	14,03	11,65	25,68	0,333	46,7	1,005	117,1	163,8
4	Obornik + fosforyt + szczep nr 13 — 1 miesiąc przed siewem Manure + phosphorite + strain no. 13 — 1 month before sowing time	14,21	11,53	25,74	0,296	42,1	0,980	113,0	155,1
5	Obornik + fosforyt + szczep nr 13 — przez zakażenie nasion Manure + phosphorite								

	+ strain no. 13 — seed inoculation	15,06	12,41	27,47	0,268	40,4	1,004	124,6	165,0
6	Obornik + fosforyt + szczep nr 13 — 10 dni po wschodach Manure + phosphorite + strain no. 13 — 10 days after germination	14,83	12,28	27,11	0,287	42,6	0,988	121,3	163,9
7	Obornik + fosforyt + szczep nr 14 — 1 miesiąc przed siewem Manure + phosphorite + strain no. 14 — 1 month before sowing time	13,89	11,97	25,86	0,275	38,2	0,967	115,7	153,9
8	Obornik + fosforyt + szczep nr 14 — przez zakażenie nasion Manure + phosphorite + strain no. 14 — seed inoculation	14,79	12,27	27,06	0,265	39,2	0,932	114,3	153,5
9	Obornik + fosforyt + szczep nr 14 — 10 dni po wschodach Manure + phosphorite + strain no. 14 — 10 days after germination	14,71	12,48	27,19	0,282	41,5	0,986	123,1	164,6
	Przedział ufności: Interval of confidence:	1,001	0,878	1,754					

Tabela 39

Zastosowanie szczepu nr 14 w doświadczeniu wazonowym z łubinem

Application of strain no. 14 in pot experiment with lupin

Kombinacje Combinations	Plon powietrznie s. m. łubinu po zawiązaniu strąków Air dry mass yield of lupin after pod forming	Zawartość P_2O_5 w plonie roślin Amount of P_2O_5 in plant yield		% drobnoustrojów[1] rozpuszczających fosforany wapnia znalezionych: % of microorganisms dissolving calcium phosphates growing:					
				w glebie poza korzeniami in soil beyond roots			na korzeniach on roots		
	g na wazon g per pot	%	mg na wazon mg per pot	silnie i bardzo silnie strong and very strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight	silnie i bardzo silnie strong and very strong	średnio moderate	słabo i bardzo słabo slight and very slight
Nieszczepiona Uninoculated	51,45	0,301	154,9	4	12	32	0	0	25
Szczepiona szczepem nr 14 Inoculated with strain no. 14	49,00	0,294	144,1	29[2]	17	21	92[2]	8	0

[1] Procent tych drobnoustrojów określono po sprzęcie roślin przy pomocy metody „kropelkowej"

[2] Drobnoustroje te wyglądem i stopniem uzdolnienia do rozpuszczania fosforanów wapnia były podobne do szczepu nr 14

[1] Percentage of these microorganisms was determined after plant harvest

[2] These microorganisms were similar in aspect and in calcium phosphate dissolving ability to the strain no. 14

W warunkach przeprowadzonego doświadczenia szczepienie szczepem nr 14 nie wpłynęło na uruchamianie fosforu z fosforytu, chociaż bakterie zastosowane jako szczepionka dobrze rozwijały się jakby wynikało z analiz mikrobiologicznych — w glebie pod łubinem, a szczególnie na jego korzeniach (tab. 39).

Omówienie wyników doświadczeń wazonowych

Aby się przekonać, w jakim stopniu badane szczepy bakterii wpływają na udostępnianie fosforu roślinom, przeprowadzono 9 doświadczeń wazonowych. Chociaż działanie szczepionek było na ogół nieznaczne, to jednak zaznaczył się wpływ niektórych warunków środowiska na ich aktywność.

Na podłożach mineralnych (piasek kwarcowy, piasek gliniasty) działanie zastosowanych szczepionek było słabe, lub nie przejawiało się wcale, (tab. 21, 23, 25). Dodatek do piasku glikozy, która miała być tworzywem dla kwasów, podobnie jak w pożywkach syntetycznych, nie dał wyników. Większe dawki glikozy (3 g na wazon) spowodowały nawet, w wyniku rozmnażania się mikroflory rodzimej i wprowadzonych szczepionek, obniżenie się plonu roślin (tab. 21, 22).

Wyraźniejsze natomiast dodatnie działanie wykazywały stosowane szczepionki na torfie i glebie przytorfowej (tab. 32, 37). Przy dodatku obornika do gleby przytorfowej wpływ szczepienia nie zaznaczył się wcale (tab. 38).

Rozpatrując skuteczność działania szczepionek na różne rośliny, trzeba stwierdzić, że w warunkach przeprowadzonych doświadczeń owies silniej reagował na szczepienie, niż len. Trudno jednak powiedzieć, czy przyczyną tego były właściwości fizjologiczne owsa, czy też wzajemny wpływ systemu korzeniowego tej rośliny i wprowadzonych do gleby bakterii. Z przyrostu plonu korzeni owsa w doświadczeniu na piasku gliniastym wynikałoby, że bakterie te wytwarzały pewne związki, które wpływały specjalnie korzystnie na rozwój korzeni owsa (tab. 23). Wyniki bowiem licznych prac wskazują na dodatni wpływ substancji wzrostowych wytwarzanych przez drobnoustroje na ukorzenianie się roślin (Ber 1950, str. 33—34).

Analizy mikrobiologiczne świadczyłyby o tym, że wprowadzone do podłoży bakterie dobrze rozwijały się w glebie pod roślinami, choć te ostatnie — zależnie od okresu wegetacyjnego — mogły wpływać na rozwój zastosowanych szczepionek. Na przykład w piasku gliniastym pod owsem, w czasie jego kłoszenia— przeciwnie niż w okresie dojrzewania — nie stwierdzono obecności komórek wprowadzonych bakterii. Brak ich notowano również w glebie pod lnem w czasie dojrzewania tej rośliny (tab. 24, 26).

W warunkach przeprowadzonych doświadczeń szczepy nr 13 i nr 14 wpływały w obecności mączki kostnej w niektórych kombinacjach na obniżenie się plonu roślin (tab. 23, 25). Natomiast przy zastosowaniu fosforytów wpływ szczepienia tymi bakteriami okazał się na ogół korzystniejszy (tab. 32).

W jednym z doświadczeń dodano do piasku kwarcowego kompost torfowo-fosforytowy, szczepiony bakteriami „fosforowymi". Nawóz ten wpływał jednak niekorzystnie na plony końcowe lnu i owsa. Było to prawdopodobnie wynikiem sorpcyjnych właściwości torfu (tab. 30, 31).

Efekt działania stosowanych szczepionek zależał także od właściwości użytego szczepu bakterii i sposobu szczepienia. Szczep nr 14, podobnie jak w podłożach syntetycznych, okazał się bardziej aktywny, niż szczep nr 13 (tab. 32, 37). Szczep nr 14 stosowany w mieszance z innymi bakteriami rozpuszczającymi fosforany wapnia wykazywał słabsze działanie, niż stosowany w czystej kulturze (doświadczenie z jęczmieniem, tab. 21). Natomiast mieszanka szczepu nr 14 ze szczepem A-22, mineralizującym organiczne związki fosforu, działała w obecności mączki kostnej lepiej, niż sam szczep nr 14 (tab. 23, 25). Wskazuje to na uzupełniające działanie szczepu A-22, polegające prawdopodobnie na uruchamianiu tego fosforu, który został zasymilowany przez komórki silnie rozwijającego się szczepu nr 14.

Skuteczność działania stosowanych szczepionek zależała także od czasu ich stosowania. Na ogół szczepienie dawało nieco lepsze wyniki przy zakażaniu nasion, niż przy przedsiewnym lub posiewnym wprowadzaniu bakterii do gleby (tab. 37). Należałoby w dalszym ciągu sprawdzić, w jakim stopniu skuteczność działania szczepów nr 13 i nr 14 będzie zależeć od ilości i wieku komórek wprowadzanych do gleby.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Badania nad drobnoustrojami rozpuszczającymi fosforany wapnia, przeprowadzone w latach 1954—1958, rozpoczęto od poszukiwania najbardziej selektywnej pożywki dla ich wyodrębnienia. Wybrano w tym celu pożywkę Pikowskiej, której skład nieznacznie przerobiono. Z pomocą tej pożywki wyodrębniono z piasku gliniastego oraz z rizosfery łubinu, owsa i ziemniaka kilkadziesiąt szczepów bakterii i grzybów, rozpuszczających w warunkach laboratoryjnych fosforan trójwapniowy. Z kolekcji tej do dalszych badań wybrano 23 szczepy bakterii i 10 szczepów grzybów o najwyraźniej zaznaczającej się zdolności rozpuszczania tego związku.

W celu bliższego poznania tych drobnoustrojów określono ich cechy morfologiczne i hodowlane, oraz usiłowano zbadać warunki, w jakich rozpuszczają one fosforan trójwapniowy w różnych podłożach. Bardziej

szczegółowo zbadano właściwości fizjologiczne szczepów bakterii nr 13 i nr 14, które, ze względu na ich różny stopień aktywności, wybrano jako szczepionki do doświadczeń wegetacyjnych. W doświadczeniach laboratoryjnych starano się poznać, jaka jest ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego i mączek fosforytowych, nie tylko w pożywkach syntetycznych, lecz także w glebie.

Celem poznania, jak licznie występują drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia w naturalnych zespołach mikroflory, badano w ciągu 2 sezonów (1955, 1956), w różnych okresach wegetacji roślin, rozprzestrzenienie tych drobnoustrojów w rizosferze jęczmienia, owsa, lnu, gryki, ziemniaka, grochu i łubinu. Rośliny te uprawiano na piasku gliniastym na mikropoletkach. W badaniach tych zajęto się także drobnoustrojami mineralizującymi organiczne związki fosforu, obserwując zmiany zachodzące w stosunkach ilościowych między tymi dwiema grupami.

W badaniach posługiwano się dwiema metodami: metodą ilościowo-jakościową, opierając się na pracach Lochheada (1938) i Gołębiowskiej (1957) oraz dostosowaną do tego celu metodą „kropelkową". Przy pomocy metody ilościowo-jakościowej oznaczano procentowy udział w całym zespole bakterii i promieniowców rozpuszczających fosforan trójwapniowy i mineralizujących niektóre organiczne związki fosforu (kwas nukleinowy, lecytyna i glicerofosfat). Zwrócono przy tym uwagę na intensywność rozpuszczania fosforanu trójwapniowego przez poszczególne szczepy. Przy pomocy metody „kropelkowej" oznaczano procentową ilość — w stosunku do ogólnej ilości drobnoustrojów — takich zespołów mikroflory, które były czynne przy rozpuszczaniu fosforanu trójwapniowego.

Równolegle z tym przeprowadzono 9 doświadczeń wazonowych (w latach 1955—1957), aby się przekonać, w jakim stopniu wyodrębnione szczepy bakterii (nr 13 i nr 14), które in vitro w różnym stopniu rozpuszczają fosforany wapnia, będą wpływały na udostępnianie fosforu roślinom. W niektórych doświadczeniach wprowadzono nadto do gleby bakterie mineralizujące organiczne związki fosforu. Roślinami doświadczalnymi były: jęczmień, owies i len, jako reagujące w różnym stopniu na brak przyswajalnego fosforu w glebie. Obok gleb mineralnych (piasek kwarcowy z dodatkiem glukozy, piasek gliniasty) używano gleb organicznych (torf, gleba przytorfowa). Nawożenie fosforowe stosowano albo w postaci nisko procentowych mączek fosforytowych, albo wysoko procentowej mączki apatytowej lub też mączki kostnej, dając na wazon 0,2—0,3 g, a w doświadczeniach na glebie przytorfowej — 0,8 g P_2O_5 ogólnego. Dla porównania stosowano w równoważnych ilościach superfosfat. W czasie wegetacji roślin sprawdzano żywotność szczepionek w glebie pod roślinami, oznaczając występowanie drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia metodą ilościowo-jakościową lub „kropelkową", porównawczo w seriach szczepionych i kontrolnych.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Spośród wypróbowanych pożywek, stosowanych przez Mienkinę, Pikowską, Gerretsena, Johnston i Fiodorowa, zmodyfikowana agarowa pożywka Pikowskiej okazała się najbardziej przydatna do wyodrębniania drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia.

2. Wyodrębnione szczepy bakterii, rozpuszczające fosforany wapnia, były reprezentowane przez nieprzetrwalnikujące, tlenowe pałeczki i organizmy podobne do dyfteroidów. Aktywne w tym kierunku gatunki rozkładały często związki białkowe (tab. 1, 4, rys. 6—11). Spośród grzybów rozpuszczających fosforany wapnia znaleziono dwa rodzaje: *Penicillium* i *Rhodotorula* (tab. 4, rys. 12, 13).

3. Zdolność wyodrębnionych drobnoustrojów do rozpuszczania fosforanów wapnia była zależna od źródeł węgla i najsilniej przejawiała się w pożywkach z glikozą, słabiej na mannitolu, w pożywkach z solami sodowymi octanu i cytrynianiu organizmy te nie rozpuszczały fosforanów (tab. 2).

4. Również użyte związki azotu wpływały w różny sposób na stopień uruchamiania fosforu z fosforanów wapnia przez badane szczepy. Duże nasilenie tego procesu notowano w pożywkach z azotem amonowym lub peptonem, słabo natomiast na azocie azotanowym, moczniku, glicynie i argininie (tab. 6).

5. Bardziej szczegółowo zbadano szczepy: nr 13 zbliżony do rodzaju *Pseudomonas* i nr 14 z rodzaju *Achromobacter*. Rozpuszczały one obok fosforanu trójwapniowego także fosforany w mączce kostnej. Szczep nr 14 oddziaływał na nie z większą mocą i uruchamiał także fosfor z mączki fosforytowej w pożywkach syntetycznych (tab. 5, rys. 22, 23).

6. Rozpuszczanie fosforanów wapnia było wynikiem oddziaływania na nie kwasów wytwarzanych przez drobnoustroje. Obok kwasów wpływ na uruchamianie fosforu z tych związków mogły wywierać inne metabolity badanych drobnoustrojów. Wskazywałoby na to rozpuszczanie fosforanów wapnia w pożywce z cytrynianem wapnia jako ze źródłem węgla i energii przy trwałym zachowaniu słabo alkalicznego odczynu pożyki (tab. 2, 6, 7).

7. Obok procesu rozpuszczania fosforanów wapnia przez badane szczepy notowano w starszych ich hodowlach wyraźną sorpcję uruchomionego fosforu (tab. 11, rys. 22, 23).

8. W przeciwieństwie do warunków panujących w podłożach sztucznych, w naturalnych podłożach: w piasku gliniastym, piasku kwarcowym i w kompostach torfowych, do których dodawano trudno przyswajalne fosforany wapniowe, uruchamianie fosforu przez badane drobnoustroje było słabe lub nie przejawiało się wcale (tab. 9, 13).

9. Stwierdzono, że strefa przykorzeniowa badanych roślin była dobrym siedliskiem dla rozwoju bakterii i promieniowców rozpuszczających fosfo-

rany wapnia lub mineralizujących organiczne związki fosforu. Ilości tych organizmów zależały w naszych badaniach od rodzaju i wieku rośliny (tab. 15, 16).

10. Na korzeniach roślin i w glebie najliczniej występowały drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia tylko w słabym stopniu. Drobnoustroje rozpuszczające te związki energicznie spotykano rzadko (rys. 31, 32).

11. Na ogół najenergiczniej rozpuszczały fosforany wapnia zespoły drobnoustrojów wyodrębnione z korzeni łubinu. Natomiast zespoły pochodzące z korzeni ziemniaka i lnu były pod tym względem słabo aktywne (tab. 18, 19). Pożądane byłoby powtórzenie naszych analiz z korzeniami tych samych roślin w kilku sezonach wegetacyjnych.

12. Wyodrębnione z korzeni roślin i z gleby drobnoustroje, mineralizujące organiczne związki fosforu, rozkładały kwas nukleinowy (R N) i glicerofosfat. Tylko niektóre spomiędzy nich mineralizowały także lecytynę (rys. 33, 34). Promieniowce okazały się silnymi mineralizatorami kwasu nukleinowego (R N).

13. W doświadczeniach wazonowych przeprowadzono próbę udostępniania roślinom fosforu przez równoczesne nawożenie ich fosforytami i szczepienie bakteriami uznanymi za energicznie rozpuszczające fosforany wapnia. Stwierdzono jednak, że w warunkach naszych doświadczeń wegetacyjnych działalność tych bakterii była słaba lub też nie przejawiała się wcale. Nieco silniejsze niż w glebach mineralnych było uruchamianie fosforu w torfie (tab. 32).

14. Doświadczenia te należałoby powtórzyć przy zastosowaniu wnikliwej analizy losów uruchomionych fosforanów (określenie bilansu fosforu ogólnego, organicznego i rozpuszczalnego, w różnych etapach doświadczenia). Należałoby to zbadać w glebach mineralnych i organicznych, uwzględniając w nich stosunki ilościowe między C, N i P.

15. Prócz tego dalsze badania powinny pójść w kierunku dokładniejszego poznania zarówno w warunkach laboratoryjnych jak i w glebie, różnych właściwości fizjologicznych drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia. Należałoby poznać kompleks enzymatyczny tych drobnoustrojów oraz sposób ich oddziaływania na fosforany wapniowe.

Pragnę wyrazić podziękowanie Prof. dr J. Gołębiowskiej za bezpośrednie kierowanie pracą, Prof. dr J. Ziemięckiej za udzielanie rad i wskazówek dotyczących wykonywania pracy. Dziękuję również współpracownicom: W. Żywickiej i J. Korabiec za wydatną pomoc w pracach analitycznych. Wydziałowi PAN dziękuję za stypendium, które ułatwiło mi wykonanie niniejszej pracy.

LITERATURA

1. Aberson J. H: Ein Beitrag zur Kenntnis der Natur der Wurzelausscheidungen, Jahrb. f. wiss. Bot. t. 47 : 41, 1910.

2. Adams F. i Conrad J. P: Transition of phosphite to phosphate in soils, Soil Sc., 75 : 361, 1953.

3. Askinazi D. Ł.: Fosfatnyj reżim i izwiestkowanije poczw s kisłoj reakcijej, 1949.

4. Balla H. i Sarkadi J.: Badania laboratoryjne nad obornikiem kompostowanym z dodatkiem fosforytu i apatytu, Agrokom talajtan, 4 + 471, 1952.

5. Baranow A. P. i Szczepietelnikowa A. M.: O swojstwach granulirowanych udobrienij, Dokłady WASChNIŁ, 3,3—11, 1951.

6. Bassalik K.: Über Silikatzersetzung durch Bodenbakterien, Zeitschrift für Gärungsphysiologie, t. II : 1, 1912, t. III : 14, 1913.

7. Bastisse M.: Ann. Inst. National Recherche Agronomique, serie A, Ann. agar. 1 : 748, 1950.

8. Ber A.: Hormony wzrostu roślin zielonych, grzybów i bakterii, str. 32, 1950.

9. Bergey D. H.: Bergeys manual of determinative bacteriology, 1948.

10. Bieriozowa E. F.: Wzaimootnoszenija rastienij s mikrofłoroj poczwy, Agrobioł., 5 : 72, 1950.

11. Bieriozowa E. F. i Riempie E. Ch.: Mikrofłora korniewoj sistiemy rastienija i mietodika jego izuczenija, Tr. Inst. Siel. Mikrobioł., t. 12 : 39, 1951.

12. Bieriozowa E. F. i Riempie E. Ch.: Diejstwije minieralnogo i organominieralnogo granulirowannogo superfosfata na mikrofłoru poczwy, Dokłady WASChNIŁ, 4, 1951.

13. Bieriozowa E. F., Uarowa W. N., Niesterowa G. H., Niesterowa E. J.: Ispolzowanije bakterii bakterii razszczeplajuszczych trechrazszczeplajuszczych trechkalciniewyj fosfat dla ułuczszenija fosfornogo pitanija rastienij i powyszenija efektiwnosti fosforitnoj muki, Biul. Naucz. Inform. po sielskochoz. mikrobioł. 1956.

14. Bradley D. B. i Sieling D. H.: Effect of organic anions and sugars on phosphate precipitation by iron and aluminium as influenced by pH, Soil Sc. 76 : 175, 1953.

15. Bremner J. M.: The chemical Nature of humic Nitrogen, J. Agric. Sc. 46 : 2, 1955.

16. Broadbent F. E.: Basic problems in organic matter transformations, Soil Sc. 79 : 107, 1955.

17. Chejfec D. M.: Mietodika opriedielenija sodierżanija mineralnych i organiczeskich sojedinienij fosfora w niekotorych poczwach Sowieckogo Sojuza, Poczwowiedienije, 2 : 101, 1948.

18. Chejfec D. M.: Isledowanije pieriedwiżenija i nakoplenija fosfora w poczwie rizosfiery, Poczwowiedienije, 7 : 49, 1956.

19. Chinow G.: Formy fosfornych sojedinienij w poczwach Siewiernoj Bołgarii, Poczwowiedienije, 2 : 42, 1956.

20. Czapek F.: Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen, Jahrb. f. wiss. Bot., t. 29 : 321, 1896.

21. Czapek F.: Biochemie der Pflanzen, t. 2 : 869, 1905.

22. Czystiakowa F. M. i Kamniewa Z. F.: Obrazowanije kristałłow w kulturach psychrofilnych bakterij, Mikrobioł., 5 : 541, 1952.

23. Dalton J. D., Russel G. C. i Sieling D. H.: Effect of organic matter on phosphate availability, Soil Sc. 73 : 173, 1952.

24. Dean L. S.: Fixation of soil phosphorus. Advances in Agronomy, New York, t. 1 : 391, 1949.

25. Dietrich (imienia nie podano): Agrikulturchemie, t. 2 : 108, 1862.

26. Feher D.: Untersuchungen über den periodischen Kreislauf des Phosphors in den Waldböden, Phosphorsäure, t. 4 : 508, 1934.

27. Feher D.: Beiträge zum Problem des mikrobiologischen Kreislaufes des Phosphors im Boden, Phosphorsäure, t. 5 : 706, 1935.

28. Fiedler H. J. i Jahn W.: Über der Einwirkung von Mikroorganismen auf die organischen Phosphorverbindungen des Bodens, die Deutsche Landwirtschaft, 7 : 602, 1956.

29. Fiodorow M.: Rukowodstwo k prakticzeskim zaniatijam po mikrobiołogiji, 1951.

30. Fiodorow M.: Mikrobiologia (tłum. pol.), str. 321, 1952.

31. Foster J. W.: Chemical Activities of Fungi, 1949.

32. Gericke S.: Beitrag zur Kenntnis der Phosphate, Angew. Chemie, 61 : 410, 1949 r.

33. Gerretsen F. C.: The influence of microorganisms on the phosphorus intake by the plant. Plant and Soil, 1 : 51, 1948.

34. Glathe H.: Die Bedeutung der Phosphorsäure für die Bodenmikroben, Die Phosphorsäure, 13 : 190, 1943.

35. Gołębiowska J.: Zastosowanie metody Lochheada do badania rozprzestrzenienia w glebie drobnoustrojów czynnych przy przemianach fosforu. Acta Microbiol. Polon., 1 : 17, 1957.

36. Gołębiowska J. i Myśków W.: Drobnoustroje udostępniające fosfor roślinom, Wybrane zagadnienia z mikrobiologii gleby, str. 92, 1957.

37. Grazia de S.: Su l' intervento dei microorganismi nell utilistaione dei fosfati insolubili del suolo da parte delle piante superiori. (Stationi sperim. agrarial. Vol 43. 1910, str. 179—184), streszcz. Centralblatt für Bakt. II, t. 32 : 270, 1911.

38. Haselhoff E.: Untersuchungen über die Zersetzung bodenbildender Gesteine, Ref. Zentralbl. f. Bakt. II, t. 27 : 252, 1909.

39. Hausmann W.: Die Löslichkeit und Ausnutzung der Phosphorsäure in Rohphosphaten bei An- und Abwesenheit von Humusstoffen, Jena, 1939.

40. Jackman R. H. i Black C. A.: Phytase activity in soils, Soil Sc. 2 : 117, 1952 (a).

41. Jackman R. H. i Black C. A.: Hydrolisis of phytate phosphorus in soils, Soil Sc., 3 : 167, 1952 (b).

42. Jacob W. C., Middelem C. H., Nelson W. L., Welch C. D. i Hall N. S.: Utilisation of phosphorus by potatoes, Soil Sc., 68 : 113, 1949.

43. Jacob W. C. i Dean L. A.: The utilisation of phosphorus by two potato varieties on Long Island, Amer. Potato Journ., 27 : 439, 1950.

44. Jessen W. i Lesch W.: Über den Einfluss von Kieselsäure, Torf und Humus auf die Löslichkeit und Aufnahme der Phosphorsäure, Zeit. f. Pfl. Düng. und Bodenk., 1/2 : 48, 1930 r.

45. Johnston H. W.: Amendment to Gerretsen's technique for the preparation of plates used for studying phosphate — dissolving microorganisms, Plant a. Soil, 1 : 94, 1951.

46. Kaila A.: On Phosphorus in farm manure. Jour. Sc. Agr. Soc. Fin., 21 : 67, 1949.

47. Kaila A.: Farm manure as a source of phosphorus for plants, J. Sc. Agr. Soc. Fin., 22 : 107, 1950.

48. Kaila A.: Biological absorption of phosphorus, S. Sc., 68 : 279, 1949.

49. Kaila A.: Über mikrobiologische Festlegung und Mineralisierung des Phosphors bei der Zersetzung organischer Stoffe, Z. f. Pf. D. u. B., 64 : 27, 1954.

50. Kappen H.: Neue Ziele und Wege in der Herstellung künstlicher Düngemittel, Phosphorsäure, 5 : 389, 1935.

51. Karim A. i Khan D. H.: Vertical distribution of nitrogen, phosphorus, and potassium in some soils of East Pakistan, S. Sc., 1 : 47, 1956.

52. Kilian Z., Szczepanik T.: Mineralogia, petrografia, geologia, str. 88, 1955.

53. Koch A. i Kröber E.: Der Einfluss der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten, (doniesienie), Zentralbl. für Bakt. II, t. 17 : 570, 1906.

54. Kononowa M.: Problema poczwiennogo gumusa i sowriemiennyje zadaczi jego izuczenija, 1951.

55. Kotelew W. W.: Znaczenije mikroflory poczwy w pieriedwiżenji i uswojenji fosfora rastieniami pri jego oczagowom wniesieniji (metodom P^{32}), Izd. Mołd. fil. ANSSR, 1 : 9, 1955.

56. Kotelew W. W. i Sabielnikowa W. I.: Wlijanije bakterij minieralizujuszczich organiczeskije sojedinienija fosfora (P^{32}) na uswojenije jego rastienijami, Izd. Mołd. fil. ANSSR, 1 : 3, 1955 (a).

57. Kotelew W. W.: Postuplenije fosfora P^{32} w kletki mikroorganizmow i pieriedacza jego rastieniju, w Sb. — Izotopy w mikrobiołogiji, Izd. ANSSSR, str. 211—218, 1955 (b).

58. Köttgen P. i Jung L.: Über den Einfluss des Ca — und K — Jons auf die Löslichkeit der Phosphorsäure untersucht an einem Lösslehmboden der Wetterau, Bodenkunde und Pfl., 70 : 58, 1941.

59. Krasilnikow N. A.: Opriedielitiel bakterij i aktinomicetow, 1949.

60. Krasilnikow N. A.: Rol mikroorganizmow w dopołnitielnom pitanij rastienij., Usp. sowrem. biołogiji, t. 33, 3 : 337, 1952.

61. Kreybig L.: Die Bedingungen der Wirtschaftlichkeit der Handelsdünger, 1930.

62. Kreybig L.: Die biologische Aufschliessung und praktische Anwendung von mineralischen Rohphosphaten, Acta Agron. Acad. Sc. Hung., 3, 1953.

63. Kreybig L.: Neuere biologische Düngemittel und Düngungsmethoden, die Deutsche Landwirtschaft, 12 : 601, 1954.

64. Kröber E.: Über das Löslichwerden der Phosphorsäure aus wasserunlöslichen Verbindungen unter der Einwirkung von Bakterien und Hefen, J. f. Landwirt., t. 57, 1 : 5, 1909.

65. Kudrin S. A.: Krugoworot fosfora w poczwie i priewraszczenije w niej fosfatow udobrienij, Agrobiołogija, 5 : 91, 1952.

66. Kunze G.: Über Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung, Jahrb. für wiss. Botanik, t. 42 : 357, 1906.

67. Kuryłowicz B. i Kermen J.: Doświadczenia wstępne nad poszukiwaniem bakterii glebowych udostępniających roślinom fosfor z trudno rozpuszczalnych fosforanów, Rolnictwo 1, SGGW, str. 75—84, 1957.

68. Lemmermann O.: Die Phosphorsäurefrage, 1922.

69. Leszlo G. i Pop Cl.: La mobilisation des phosphates par certaines especes de microorganismes, Symposium Methodes d'Etudes Microbiologiques du Soil, 1957, Vol 6.

70. Lipman J. G., Mc Lean i Lint M. C.: Soil Sc. 1 : 533, 1916, (wg F. Löhnisa 1935).

71. Lityński T.: Chemia Rolna, skrypt, 1946.

72. Lochhead A. G. i Taylor C. B.: Qualitative studies of soil microorganisms, I. General Introduction, Canad. J. of Res., 16, C: 152, 1938, (wg J. Gołębiowskiej, 1957).

73. Lochhead A. G.: Qualitative studies of soil microorganisms. III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. Canad. J. of Res., 18 : 42, 1940, (wg J. Gołębiowskiej, 1957).

74. Lochhead A. G. i Thexton R. H.: Qualitative studies of soil microorganisms. VII. The rhizosphera effect in relation to the amino acid nutrition of bacteria. Canad. J. of Res. 25 : 276, 1947, (wg J. Gołębiowskiej, 1957).

75. Mehlich A., Fred E. B., Truog E.: The Cunninghamella plaque method of measuring available P in soil, Soil Sc. 38 : 445—458, 1934.

76. Michael G. i Marschner H.: Untersuchungen über die Phosphat-Abscheidung aus Pflanzenwurzeln mit Hilfe von P^{32}, Z. f. Pflanzenernähr. Dung. Bodenk. t. 80 : 1, 1958.

77. Mienkina R. A.: Bakterji mineralizujuszczie organiczeskije sojedinienija fosfora, Mikrobioł., 4 : 308, 1950.

78. Mienkina R. A.: Mobilizacja fosfora poczwy pod wlijanijem żizniedieiatielnostju bakterij, mieneralizujuszczich fosforo-organiczeskije sojedinienija, Tr. Inst. Siel. Mikrobioł., t. 12 : 131, 1951.

79. Misterski W.: Badania nad próchnicą, cz. I, R. N. R., 76 — A — 1 : 44, 1957.

80. Misterski W. i Łoginow W.: Badania nad próchnicą, cz. II — (materiały nie opublikowane), 1957.

81. Misterski W. i Łoginow W.: Badania nad nawozami organo-mineralnymi, Nowe Rolnictwo, 1 : 21, 1958.

82. Misterski W. i Łoginow W.: Kompostowanie obornika ze składnikami mineralnymi, Nowe Rolnictwo, 2 : 72, 1958.

83. Muromcew G. S.: K woprosu ob ispolzowaniji wodnonierastworimych fosfatow poczwiennymi mikrobami, Dokł. WASChNIŁ, 5 : 35, 1955.

84. Muromcew G. S.: O roli produktow żizniedieiatielnosti poczwiennych mikroorganizmow w mobilizacji P_2O_5 fosforitow, Agrobioł., 1 : 97, 1957 (a).

85. Muromcew G. S.: Mietody izuczenija rastworenija fosfatow kalcija mikroorganizmami, Mikrobioł., 2 : 172, 1957 (b).

86. Musierowicz A.: Znaczenie torfu dla wykorzystania mączek fosforytowych, R. N. R. i L. t. 20, 1, 1928.

87. Musierowicz A.: Gleboznawstwo ogólne, str. 255, 1951.

88. Musierowicz A.: Związki fosforowe w glebach, ich przemiany i przyswajalność dla roślin, R. N. R., 70 — A — 4 : 557, 1955.

89. Niklas H., Poschenrieder H., Hock A.: Über die Verbreitung des Azotobakters in den Boden Bayerns unter Berücksichtigung der Bodenreaktion des Kalk- u. Phosphorsäuregehaltes derselben, Zentralbl. für Bakt. II, t. 66 : 16, 1925.

90. Norgaard Pedersen E. J.: On phytin phosphorus in the soil, Plant and Soil, 4 : 252, 1953.

91. Ozjelina Z. D.: Rol izwiesti i fosforitnoj muki w powyszeniji efiektiwnosti torfianych kompostow, Udobrienije i urożaj, 3 : 14, 1956.

92. Perotti Renato: Über den biochemischen Kreislauf der Phosphorsäure im Ackerboden, Zentralbl. f. Bakt. Parasit. t. 25, 14 : 409, 1909.

93. Pikowskaja R. I.: Mobilizacja fosfatow w poczwie w swiazi z żizniedieczticlnostju niekotorych widow mikrobow, Mikrobioł. 5 : 362, 1948.

94. Prianisznikow D. N.: O wlijanji ammjacznych solej na uswojenije fosfornoj kisłoty małorastworimych fosfatow. Izw. M. S-ch Inst., 1905.

95. Prianisznikow D. N.: Über das Aufschliessen der Rohphosphate durch die Wurzellausscheidungen von Lupinen, die Phosphorsäure, 35 : 1, 1934.

96. Prianisznikow D. N.: Agrochimia, 1952.

97. Rathje W.: Zur Kenntnis der Phosphate I: Über Hydroksylapatit, Bodenk. und Pflanzenernähr., 12 : 121, 1939.

98. Rathje W.: Zur Kenntnis der Phosphate, II Mitteil.: Die neutralen und basischen Phosphate der Erdalkalimetalle, Berichte deutsch. chem. Gesell., 74 : 342, 1941.

99. Rathje W.: Zur Kenntnis der Phosphate, Berichte der deutsch chem. Gesellschaft, 3 : 342, 1956.

100. Rubienczyk Ł. I.: Niekotoryje spornyje woprosy o roli pocz-

wiennych mikroorganizmow w pitaniji rastienij, Mikrobioł., 2 : 229, 1955.

101. Sackett W. G., Patten J. i Brown W.: The solvent action of soil bacteria upon the insoluble phosphates of raw bone meal and natural raw rock phosphate, Cent. f. Bakter. Abt. II, 20 : 688, 1908.

102. Samojłow I. I.: O powyszeniji efektiwnosti fosforitnoj muki, Dokł. WASChNIŁ, 4 : 3, 1952.

103. Samojłow I. I., Bierio-zowa E. F. i inni: Efektiwnost' i usłowija primienienija fosforno-bakterialnogo udobrienija, Tr. W. Naucz. Inst. Siel. Mikrobioł. t. 13 : 173, 1953.

104. Sauerlandt W.: Studien über Phosphorsäure umsetzungen im Boden und deren Bestimmung, Z. f. Pfl. u. Dung., 21 : 187, 1931.

105. Sauerlaandt W.: Über den Kreislauf des Phosphors im Boden, Phosphorsäure, 3 : 711, 1933.

106. Sauerlandt W., Scheffer F. i Banse H. J.: Untersuchungen über organisch gebundenen Phosphor in verschiedenen Boden, Z. f. Pfl., 76 : 244, 1957.

107. Scharpenseel H. W. i Concepcion J. S.: Studien über die Pflanzenaufnehmbarkeit einiger Phosphordünger und ihre Verteilung in verschiedene Bodenschichttiefen an tropischen Bodentypen, Landwirt. Forschung, t. 10 : 9, 1957.

108. Scheffer F. i Welte E.: Pflanzenernährung, str. 82—84, 1955.

109. Sewerin S. A.: Die Mobilisierung der Phosphorsäure des Bodens unter dem Einfluss der Lebenstätigkeit der Bakterien Zentralb. f. Bakt. II, t. 28 : 561, 1910, t. 32 : 498, 1912.

110. Sing Chen Chang: The Transformation of phosphorus during the decomposition of plant materials, Soil Sc., 48 : 85, 1939.

111. Sing Chen Chang: Assimilation of phosphorus by a mixed soil population and by pure cultures of soil fungi, Soil Sc. 49 : 197, 1940.

112. Sing Chen Chang i Jackson M. L.: Fractionation of soil phosphorus, Soil Sc. 84 : 133, 1957.

113. Smalij S. T.: Rol mikroorganizmow rizosfiery w pieredacze fosfora prorostkam pszenicy, Mikrobioł. Żur., t. 18, 3 : 6, 1956.

114. Smulikowski K.: Geochemia, Warszawa, str. 284, 1953.

115. Sokołow A. W.: Agrochimija fosfora, Moskwa, str. 57, 1950.

116. Starkey R. L.: Soil Sc., 32 : 367, 1931.

117. Stephenson M.: Bacterial metabolism, str. 217, 1949.

118. Stoklasa J.: Über den Einfluss der Bakterien auf die Knochen zersetzung, Zentralb. t. 6, str. 526—535, oraz 554—560, 1900.

119. Stoklasa J. i Ernest A.: Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes, Jahrb. für wiss. Botanik, t. 46 : 55, 1908.

120. Stoklasa J.: Biochemischer Kreislauf des Phosphations im Boden, Zentralb. f. Bakt. II, 29 : 383, 1911.

121. Stoklasa J.: Über den Einfluss der Bakterien auf den Lösungsprozess der Phosphate im Boden, Zentralb. II, t. 61 : 299, 1924.

122. Stoklasa J.: Aufschliessung der Rohphosphate durch die Wurzelausscheidungen einzelner Kulturpflanzen, Phosphorsäure, 4 : 129, 1934.

123. Struthers P. H. i Sieling D. H.: Effect of organic anions on phosphate precipitation by iron and aluminium as influenced by pH, Soil Sc., 69 : 205, 1950.

124. Strzelczyk E.: Wpływ nawożenia fosforem mineralnym na zespoły mikroflory w glebie, Ann. U. M. C. S., 4 : 83, 1958.

125. Swenson M. R., Cole V. C. i Sieling D. H.: Fixation of Phosphate by iron and aluminium and replacement by organic and in organic ions, Soil, Sc., 67 : 3, 1949.

126. Tompson L. G., Smith F. B. i Brown P. E.: Phosphorus assi-

milation by soil microorganisms, Soil Sc., 31 : 431, 1931.

127. Thompson L. M., Black C. A. i Zoelner J. A.: Occurence and mineralization of organic phosphorus in soils, with particular reference to associations with nitrogen, carbon, and pH, Soil Sc., 77 : 185, 1954.

129. Uarowa W. N.: Bakterii 1900.

129. Uarowa W. N.: Bakteriji rozłagajuszczije trechkalcyniewyj fosfat, Dokł. WASChNIŁ, 6 : 22, 1956.

130. Ulińska M.: Technika obliczeń przy opracowywaniu wyników doświadczeń rolniczych, str. 26, 30, 1957.

131. Ungerer E.: Über schwerlösliche Phosphate, Z. f. Pflanzenernähr. str. 321, t. 9, 1927.

132. Waksman S. A.: Principles of soil microbiology, str. 600—662, London, 1927.

133. Wiernadskij W. J.: Biochimiczeskije oczerki, 1940 (wg Askinazego 1949).

134. Własiuk P. A. i Manzon W. D.: Ob uczastii mikroorganizmow w pitanji rastienij, Izw. A. N. S. S. S. R., ser biol., 3 : 49, 1955.

135. Wondrausch J.: Badania nad znalezieniem szybkiej metody oznaczania fosforu w glebie, Ann. UMCS, 15 : 429, 1951.

136. Ziemięcka J.: O wpływie gelu krzemionkowego na pobieranie fosforu przez azotobaktera, Poznań, 1929 (a).

137. Ziemięcka J.: Metody mikrobiologicznego oznaczania żyzności gleby, R. N. R. i L. t. 21 : 79, 1929 (b).

138. Ziemięcka J.: Znaczenie fosforu przy asymilacji wolnego azotu, cz. II. R. N. R. i L., t. 21 : 231, 1929 (c).

139. Ziemięcka J.: Zarys mikrobiologii gleby, str. 196, 219, 1948.

Вл. Мыськув

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РАСТВОРЯЮЩИХ ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ

Резюмé

Исследования микроорганизмов растворяющих фосфаты кальция, проведенные в 1954 — 1958 гг., начаты с поисков наиболее селективной питательной среды для их выделения. Избрано среду Пиковской, модифицируя незначительно ее состав. С помощью этой среды были выделены из супеси а также из ризосферы люпина, овса и картофеля несколько десятков штаммов бактерий и актиномицетов растворяющих в лабораторных условиях фосфорнокислый кальций.

Определено морфологические свойства выделенных штаммов, кроме того исследовано условия в каких растворяют они в различных питательных средах фосфорнокислый кальций.

Более точно были исследованы физиологические особенности штаммов бактерий № 13 и 14 примененных в вегетационных опытах. В лабораторных опытах делано усилие познать фосфатрастворяющую способность этих бактерий не только в синтетических средах, но также и в почве.

Чтобы узнать, в каком количестве выступают микроорганизмы растворяющие фосфаты кальция в естественных ассоциациях микрофлоры, исследо-

вано в течение двух сезонов их распространение в ризосфере ячменя, овса, льна, гречихи, картофеля, люпина и гороха.

Растения выращивались на супеси на микроделянках. В этих исследованиях учитывались также микроорганизмы минерализующие фосфорорганические соединения.

Параллельно с этим проведено 9 вегетационных опытов в годах 1955—57 гг., чтобы убедиться, в какой мере выделенные штаммы бактерий (№ 13 и 14) будут делать фосфор доступным для растений. В некотопых опытах применено как бактериальный препарат бактерии минерализующие фосфорорганические соединения.

Опытными растениями были: овёс и лён, реагирующие различно на недостаток усваиваемого фосфора в почве. Кроме минеральных почв были употреблены органические почвы, фосфорное удобрение применено в виде местной фосфоритовой муки, апатитовой или костяной, в количестве 0,2-0,8 г общего P_2O_5 на сосуд. В течение вегетации растений проверено в почве под растениями жизнеспособность микроорганизмов примененных как бактериальные препараты.

Полученные результаты могут быть сопоставлены следующим образом:

1. Из проверенных питательных сред, применяемых Менкиной, Пиковской, Герретсеном, Джонстон и Фёдоровым, модифицированная агаровая среда Пиковской оказалась самой пригодной для выделения микроорганизмов растворяющих фосфаты кальция.

2. Выделенные штаммы бактерий, способные растворять фосфаты кальция представляли собой бесспорные, аэробные палочки и организмы похожие на дифтероиды. Активные в этом направлении штаммы расщепляли белковые соединения (табл 1, 4, рис. 6 — 11),

Между грибами растворяющими фосфаты кальция отмечено два рода: ***Penicillium*** и ***Rhodotorula*** (табл. 4. рис. 12, 13),

3. Способность выделенных микроорганизмов растворять фосфаты кальция зависела от источников углерода; она являлась самой сильной в средах с глюкозой, слабее на манните. В средах с уксуснокислым и лимоннокислым натрием эти организмы не растворяли фосфаты кальция (табл. 2).

4. Употреблённые тоже источники азота влияли в разной мере на растворение фосфатов кальция в средах с исследованными штаммами. Большую интенсивность этого процесса отмечено в средах с аммиачным азотом или пептоном, слабую же на нитратном азоте, мочевине, гликоколе и аргинине (табл. 6).

5. Более подробно исследовано штаммы: № 13 приближенный к роду ***Pseudomonas*** и № 14 из рода ***Achromobacter.*** Растворяли они кроме фосфорнокислого кальция также фосфаты в костной муке. Штамм № 14 действовал на эти соединения сильнее, чем штамм № 13 и был тоже способный мобилизировать в синтетических средах фосфор содержащийся в фосфатной муке (табл. 5, рис. 22, 23).

6. Растворение фосфатов кальция было вызвано кислотами, продуктами жизнедеятельности миктоорганизмов. Кроме кислот влияние на распад этих соединений могли указывать другие метаболиты исследованных штаммов. На это указывало бы растворение фосфатов кальция в питательной среде с лимоннокислым кальцием как источником углерода и энергии при постоянном сохранении слабо щёлочной реакции среды (табл. 2, 6, 7).

7. Кроме процесса растворения фосфата кальция исследованными штаммами отмечено в старших их культурах чёткую сорбцию фосфорной кислоты (табл. 11, рис. 22, 23).

8. В противоположность условиям в синтетических средах, в натуральных средах: в супеси, песке и в торфяных компостах, с прибавкой трудно усвояемых фосфатов кальция, мобилизация фосфора исследованными бактериями была слаба или совсем не проявилась (табл. 9, 13).

9. Доказано, что прикорневая зона исследованных растений была хорошей средой для развития бактерий и актиномицетов растворяющих фосфаты кальция или минерализующих фосфорорганические соединения. Количество этих микроорганизмов зависело в наших исследованиях от рода в вегетационного периода растений (табл. 15, 16).

10. На корнях растений и в почве найдено в большом количестве микроорганизмы только в слабой степени растворяющие фосфаты кальция. Микроорганизмы энергично растворяющие эти соединения встречались редко (рис. 31, 32).

11. Энергичнее всего растворяли вообще фосфаты кальция ассоциации микроорганизмов выделенные из корней люпина. Ассоциации же происходящие из корней картофеля и льна были в этом отношении слабо активны (табл. 18, 19).

Желательно повторить наши анализы с корнями тех самых растений в нескольких вегетационных сезонах.

12. Выделенные из корней растений и почвы микроорганизмы минерализирующие фосфорорганические соединения, расщепляли нуклеиновую кислоту и глицерофосфат. Только некоторые из них минерализировали также лецитин (рис. 33, 34). Актиномицеты оказались сильными минерализаторами нуклеиновой кислоты.

13. В проведенных вегетационных опытах деятельность бактерий, растворяющих в синтетических средах фосфаты кальция, была слабая или совсем не проявилась. Немного сильнее чем в минеральных почвах была мобилизация фосфора в торфе под влиянием этих бактерий (табл. 32).

14. Желательно былобы повторить эти опыты, исследуя точно участь мобилизуемого фосфора (определение баланса общего, органического и растворимого фосфора в различных периодах опыта). Следовалобы испытать это в минеральных и органических почвах, учитывая количественные отношения между C, N и P.

15. Кроме того дальнейшие исследования должны бы итти в направлении более точного познания, так в лабораторных как в почвенных условиях, различных физиологических особенностей микроорганизмов растворяющих фосфаты кальция. Следовалобы также изучить ферментативный комплекс этих микроорганизмов и вместе с тем способ из воздействия на фосфаты кальция.

Wł. Myśków

STUDIES ON THE MICROORGANISMS DISSOLVING CALCIUM PHOSPHATES

Summary

Studies on the microorganisms dissolving calcium phosphates, carried in 1954—58, were begun by testing the most selective culture medium for their isolating. A somewhat modified Pikowska culture medium was chosen for this purpose. Thirty-three bacteria and fungus strains dissolving calcium phosphates under laboratory conditions were isolated with the use of mentioned culture medium from loamy sand, ar from rhizosphere of lupine, oats and potatoes.

The morphological and culture characteristics of isolated strains were determined. Moreover conditions of tricalcium phosphate dissolving under the influence of found bacteria strains on different culture media were examined.

Physiological characteristics of applied in vegetation experiments strains no. 13 and no. 14 were more exactly investigated. Calcium phosphate and phosphorite dissolving ability of these strains was examined on synthetic culture media and in soil in laboratory experiments.

In order to test the occurence of microorganisms, dissolving calcium phosphates in natural microflora groups their numbers were determined in rhizosphere of barley, oats, flax, buckwheat, potatoes, lupine and peas at different vegetation periods of plants, during two seasons (1955, 1956). The plants were cultivated on micro-plots with loamy sand. Microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds were taken also into consideration in these investigations.

Nine pot experiments (1955—57) were conducted on a parallel line, in order to examine the influence of isolated bacteria strains (no. 13 and no. 14) on making phosphorus available to plants. The bacteria mineralizing organic phosphorus compounds were applied in some pot experiments.

As test plants were chosen barley, oats and flax as reacting in a different degree on need of available phosphorus in soil. Besides mineral soils, organic soil was used. Phosphorus fertilizing was applied in form of na-

tive phosphorite meal, apatite meal and also bone meal, in amount 0,2—0,8 g of total P_2O_5 per pot.

The results were as follows:

1. The modified Pikowska agar culture medium appeared to be the most useful, among the tested culture media used by Mienkina, Pikowska, Gerretsen, Johnston and Fiodorow, for the isolating of microorganisms dissolving calcium phosphates.

2. The isolated strains dissolving calcium phosphates were represented by non spore forming, aerobic rods and organisms similar to diphtheroides. Active strains decomposed often protein compounds (tabl. 1, 4, fig. 6—11).

Two genera: *Penicillium* and *Rhodotorula* were found among fungi dissolving calcium phosphates (tabl. 4, fig. 12, 13).

3. Calcium phosphate dissolving ability of isolated strains depended on carbon sources, it was strongest in culture media with glucose, slighter on mannite. The examined microorganisms did not dissolve calcium phosphates in culture media with natrium acetate and natrium citrate (tabl. 2).

4. The used nitrogen compounds influenced also in a differerent degree the releasing of phosphorus out of calcium phosphates in media with examined strains. Great intensity of this process was noted in culture media with ammon nitrogen or peptone, on the other hand slight — on nitrate nitrogen, urea, glycine and arginine (tabl. 6).

5. The strains: no. 13 approximate to genus *Pseudomonas* and no. 14 from genus *Achromobacter* were examined more exactly. These organisms dissolved besides tricalcium phosphates also phosphates in bone meal. The strain no. 14 acted on such compounds more intensely than the strain no. 13 and was also able to release phosphorus out of phosphorite on synthetic media (tabl. 5, fig. 22, 23).

6. Calcium phosphate dissolving was due to the action of acids produced by microorganisms. Other metabolites of examined strains could exert also an influence on the releasing of phosphorus out of these compunds. Calcium phosphate dissolving in culture medium with calcium citrate as source of carbon and energy while the reaction remains slightly alkaline--can serve as proof of this supposition (tabl. 2, 6, 7).

7. Besides process of calcium phosphate dissolving under the influence of examined strains, the distinct sorption of released phosphorus was noted in older cultures (tabl. 11, fig. 22, 23).

8. In contrast to synthetic media, in natural media: in loamy sand, sand and in peaty compost with added hardly available calcium phosphates, the releasing of phosphorus under the influence of examined strains was slight or did not appear at all (tabl. 9, 13).

9. The rhizosphere of investigated plants was favourable to the development of bacteria and actinomycetes dissolving calcium phosphates or mineralizing organic phosphorus compounds. The number of these microorganisms depended in our investigations on genus and vegetation period of plant (tabl. 15, 16).

10. The microorganisms dissolving calcium phosphates only in a slight degree appeared to be the most numerous on plant roots and in soil. The microorganisms dissolving such compounds intensely were met rarely (fig. 31, 32).

11. Calcium phosphates were dissolved most intensely in general by groups of microorganisms isolated from roots of lupine. On the other hand the groups of microorganisms found on roots of potatoes and flax dissolved slightly these compounds. It would be necessary to repeat our investigations with roots of the same plants during several vegetation seasons (tabl. 18, 19).

12. Isolated from plant roots and soil microorganisms mineralizing organic phosphorus compounds were able to decompose nucleic acid (R N) and glycerophosphate. Only some from these mineralized also lecithin (fig. 33, 34). Actinomycetes were strong mineralizers of nucleic acid (R N).

13. The influence of inoculation with bacteria, dissolving calcium phosphates in synthetic media, on the phosphorus intake by plants aut of phosphorites was tested in pot experiments. The activity of examined microorganisms was slight or did not appear at all under conditions of our vegetation experiments. The releasing of phosphorus in peat was somewhat stronger than in mineral soils (tabl. 32).

14. It would be advisable to repeat these experiments with an exact analysis of the fate of released phosphorus (determining of total, organic and available phosphorus in different stages of experiments). Experiments should be carried out with mineral and organic soils paying attention to the relation between C, N and P.

15. Moreover in further investigations the different physiological characteristics of microorganisms dissolving calcium phosphates should be tested more exactly under laboratory as well as under soil conditions. It would be necessary to examine the enzymatic complex of these microorganisms and their means of solvent action on calcium phosphates.

SPIS TREŚCI

str.

Przegląd literatury 5
Krążenie fosforu i jego związki występujące w glebach 5
Drobnoustroje glebowe i mechanizm rozpuszczania przez nie mineralnych związków fosforu 6
1. Rozpuszczanie fosforanów wapnia pod wpływem drobnoustrojów ryzosfery 10
2. Badania nad sposobami biologicznego uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów 13
a) Stosowanie szczepionek bakterii rozpuszczających fosforany wapnia 14
b) Kompostowanie fosforytów 15
c) Przygotowanie granulutów fosforytowych z dodatkiem substancji organicznej 17
3. Mineralizacja organicznych związków fosforu 18
4. Asymilacja fosforu przez drobnoustroje 20
5. Badania nad drobnoustrojami wywołującymi przemiany związków fosforowych w glebie 22
Badania własne 23
A. Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapniowe 24
Sposoby wyodrębniania tych drobnoustrojów 24
Opis wyodrębnionych szczepów drobnoustrojów 26
Cechy morfologiczne wyodrębnionych drobnoustrojów 26
Rozwój wyodrębnionych drobnoustrojów na różnych związkach azotu 31
Rozwój wyodrębnionych drobnoustrojów na różnych związkach węgla 33
Zdolność wyodrębnionych drobnoustrojów do rozpuszczania fosforanów wapnia w podłożach syntetycznych 36
Ogólna charakterystyka wyodrębnionych drobnoustrojów 38
Warunki uruchamiania fosforu z trudno przyswajalnych fosforanów wapnia przez wybrane dwa szczepy bakterii (nr 13 i nr 14) 40
Przynależność systematyczna tych szczepów 41
Wpływ różnych związków azotu na rozwój szczepów nr 13 i nr 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego 41
Wpływ różnych związków węgla na rozwój szczepów nr 13 i nr 14 i ich zdolność do rozpuszczania fosforanu trójwapniowego 46
Uwalnianie fosforu z fosforytu i mączki kostnej przez szczepy nr 13 i nr 14 47
1. Doświadczenia na pożywkach syntetecznych 50
2. Uwalnianie fosforu z fosforytu i z fosforanu trójwapniowego przez badane szczepy w podłożach glebowych 55
3. Uwalnianie fosforu z fosforytu przez szczepy nr 13 i nr 14 w torfie lub piasku z dodatkiem obornika 68
Omówienie wyników badań nad właściwościami morfologicznymi i fizjologicznymi drobnoustrojów rozpuszczających fosforany wapnia 70
B. Występowanie drobnoustrojów uruchamiających fosforany i organiczne połączenia fosforowe w rizosferze roślin 71

str.
Materiał doświadczalny 71
Metodyka badań 74
Wyniki analiz mikrobiologicznych 77
1. Ogólne ilości bakterii i promieniowców 77
2. Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia i mineralizujące organiczne związki fosforu oznaczone metodą ilościowo jakościową 84
a) Drobnoustroje rozpuszczające fosforany wapnia 84
b) Drobnoustroje mineralizujące organiczne związki fosforu . . 85
3. Działanie zespołów migroflory rozpuszczających fosforany wapnia oznaczonych metodą „kropelkową" 89
4. Omówienie wyników analiz mikrobiologicznych 94
C. Szczepienie roślin bakteriami rozpuszczającymi fosforany wapnia . . . 96
Metodyka badań 96
Doświadczenia wazonowe 98
1. Doświadczenie z jęczmieniem (1955) 98
2. Doświadczenia z owsem i lnem na piasku gliniastym (1955) . . 101
3. Doświadczenia z owsem i lnem na piasku kwarcowym z dodatkiem kompostów torfowo-fosforytowych, szczepionych bakteriami „fosforowymi" (1956) 111
4. Doświadczenia z owsem i lnem na torfie (1956) 119
5. Doświadczenia z terminami stosowania szczepionek szczepów bakterii nr 13 i nr 14 (1957) 126
Doświadczenie z owsem na glebie przytorfowej (murszu) . . . 131
Doświadczenie z owsem na glebie przytorfowej z dodatkiem obornika 132
Doświadczenie z łubinem na glebie przytorfowej 133
Omówienie wyników doświadczeń wazonowych 139
III. Streszczenie i wnioski 140
Literatura 144
Streszczenie rosyjskie 149
Streszczenie angielskie 152

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW I REDAKCJI DZIAŁOWYCH INSTYTUTÓW

1. W Rocznikach Nauk Rolniczych ogłasza się drukiem tylko samodzielne prace naukowe.
2. Poszczególne prace winny się mieścić w ramach 6—24 stron druku, w wyjątkowych wypadkach objętość pracy może być większa.
3. Maszynopisy pisane jednostronnie z interlinią i marginesem (4 cm z lewej strony) po 29 wierszy na stronie, należy dostarczyć do Redakcji Naczelnej w 2 egzemplarzach.
4. Do każdej pracy należy dołączyć dwie recenzje merytoryczne.
5. Po tekście pracy winny być zamieszczone krótsze streszczenia (do 3/4 strony druku) w języku rosyjskim i angielskim, zawierające również pełny tytuł pracy w tłumaczeniu. Na końcu podaje się ponumerowany spis bibliograficzny, ułożony alfabetycznie w następujący sposób: nazwisko i pierwsze litery imienia autora, tytuł, miejsce i rok wydania dla książek, dla czasopism ponadto tytuł czasopisma w przyjętym skrócie, nr tomu, nr zeszytu, str. i rok w nawiasie. Odsyłacze w tekście muszą odpowiadać numeracji spisu bibliograficznego.
6. Rysunki i wykresy w wyraźnej formie graficznej, ponumerowane i zaopatrzone odpowiednimi nagłówkami, powinny być załączone do maszynopisu, a nie wklejone pomiędzy tekstem. Nie należy podawać surowego materiału statystycznego, tylko zestawienia zbiorcze, wynikowe.
   Wykresy nie powinny dublować zestawień cyfrowych, ujętych w tabele. Całość materiału ilustrującego należy ograniczyć do niezbędnego minimum.
7. Autorzy nie mogą dokonywać zasadniczych zmian w złożonym już tekście, poprawki nie powinny powodować zmiany ilości wierszy na stronie. Autor otrzymuje bezpłatnie 50 odbitek.
8. Od roku 1953 Roczniki Nauk Rolniczych wychodzą w następujących seriach tematycznych:
   - A — Roślinna
   - B — Zootechniczna
   - C — Mechanizacji
   - D — Monografie
   - E — Weterynarii
   - F — Melioracji i Użytków Zielonych
   - G — Ekonomiki Rolnictwa.

   Serie A, B, C, E, F i G wychodzą w zeszytach numerowanych od 1 do 4, przy czym każde cztery zeszyty stanowią kolejny tom (np. tom 66 Seria A, zeszyt 1, 2, 3 i 4; tom 67 Seria A, zeszyt 1, 2, 3 i 4). Seria F rozpoczyna się od tomu 71. Seria D — Monografie — wychodzi w kolejnych tomach.
9. Roczniki można nabywać w księgarniach naukowych „Domu Książki". Prenumeratę przyjmuje wyłącznie Centralna Księgarnia Rolnicza „Domu Książki" — Warszawa, ul. Wiejska 14.

Cena zł 19,70